علم الوراثة وأمراض النبات

أ. د. خليفة عبد المقصود زايد
أ. د. كوثر سعد قش









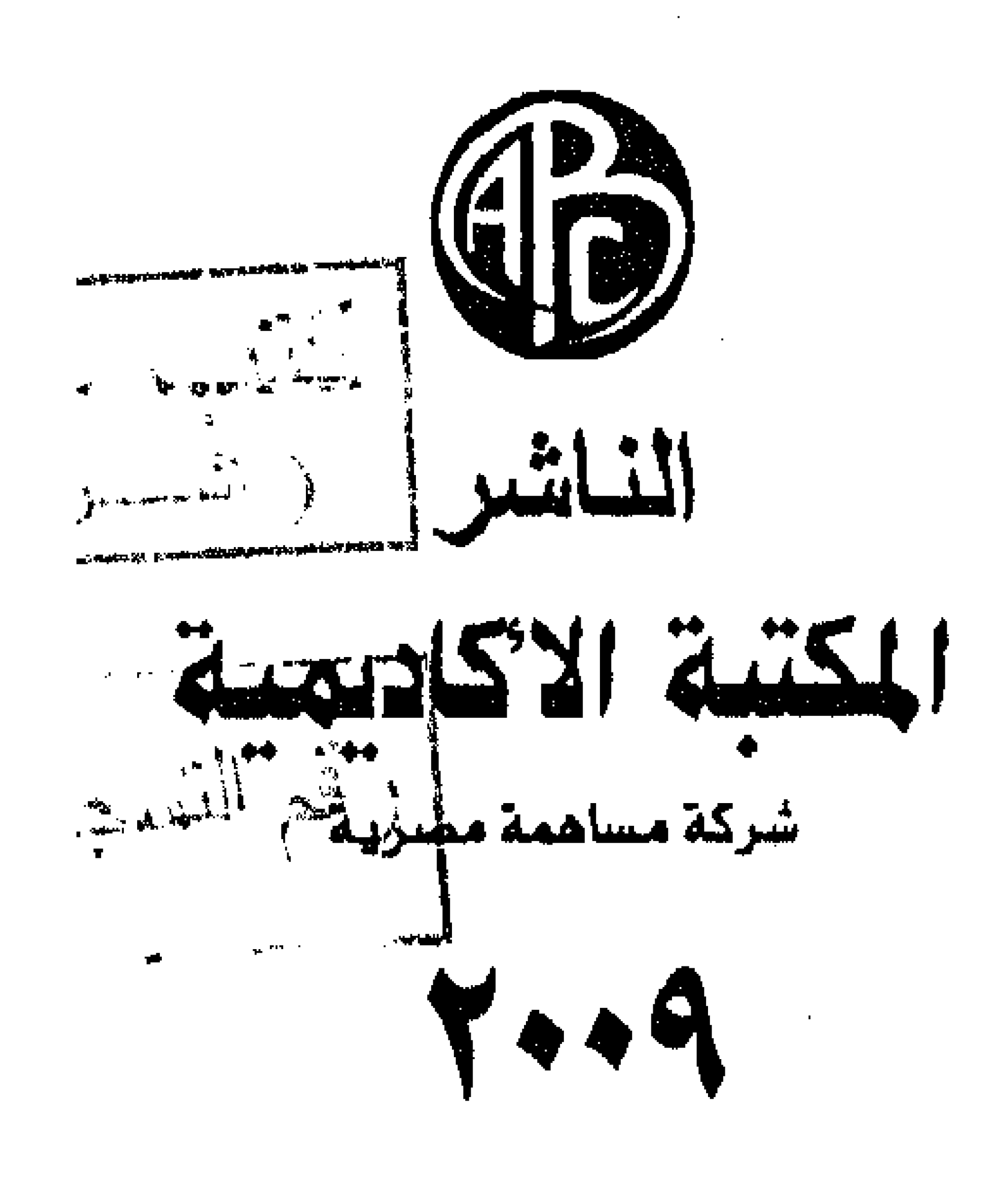
المكتبة الأكاديمية
شركة مساهمة مصرية
الحاصلة على شهادة الجودة
ISO 9002
Certificate No.: 82210
03/05/2001

علم الوراثة وأمراض النبات

علم الوراثة وأمراض النبات

الأستاذ الدكتور/ **خليفه عبد المقصود زايد**
أستاذ ورئيس مجلس قسم الوراثة
كلية الزراعة – جامعة المنصورة

الأستاذة الدكتورة/ **كوثر سعد قش**
أستاذ الوراثة
كلية الزراعة – جامعة المنصورة



الناشر
المكتبة الأكاديمية
شركة مساهمة مصرية

٢٠٠٩

حقوق النشر

الطبعة الأولي ٢٠٠٩م-١٤٢٩هـ

المكتبة الأكاديمية

شركة مساهمة مصرية

رأس المال المصدر والمدفوع ١٨,٢٨٥,٠٠٠ جنيه مصرى

١٢١ شارع التحرير - الدقى - الجيزة

القاهرة - جمهورية مصر العربية

تليفون : ٣٧٤٨٥٢٨٢ - ٣٣٣٦٨٢٨٨ (٢٠٢)

فاكس : ٣٧٤٩١٨٩٠ (٢٠٢)

القائمون بإعداد المادة العلمية لهذا الكتاب

١- الأستاذ الدكتور / خليفة عبد المقصود زايد

أستاذ ورئيس مجلس قسم الوراثة – كلية الزراعة – جامعة المنصورة

٢- الأستاذة الدكتورة / كوثر سعد قش

أستاذ الوراثة – كلية الزراعة – جامعة المنصورة

طبعة عام ٢٠٠٧م

الأهداف العامة للكتاب

١- التعريف بعلاقة الوراثة بأمراض النبات .

٢- إيضاح دور التغيرات الوراثية فى مسببات أمراض النبات وعلاقتها بنشأة سلالات فسيولوجية جديدة أشد ضراوة من المسبب المرضي الأصلي .

٣- التعريف بالطرق العامة والطرق المتخصصة لنشأة سلالات فسيولوجية جديدة فى مسببات أمراض النبات .

٤- التعريف بالعلاقة الوراثية (الجينية) بين المسبب المرضي والعائل النباتي .

٥- فهم السلوك الوراثي لصفات المقاومة للمسببات المرضية فى النبات .

٦- إظهار دور الهندسة الوراثية فى إنتاج نباتات مقاومة للأمراض للتغلب على الفقد فى إنتاج الغذاء الناتج عن مسببات أمراض النبات .

٧- توضيح الطرق الوراثية المتعلقة بإنتاج سلالات بكتيرية تستخدم فى المكافحة الحيوية لبعض مسببات أمراض النبات .

٨- تقديم خلفية وراثية لدارسي برنامج أمراض النبات تكون مدخلا وافيا لمقرر آخر متصل بذات الموضوع وهو التربية لمقاومة الأمراض .

٩- بيان المشكلات التى تواجه البيئة بسبب مسببات أمراض النبات وكيفية استغلال التقنيات الوراثية فى مواجهة مثل هذه المشكلات .

١٠-توضيح الطرق الحديثة فى تقسيم الفيروسات على أساس محتواها من المادة الوراثية .

١١- التوعية بدور الوراثة فى مواجهة مسببات أمراض النبات والمحافظة على البيئة واستثمار مواردها .

١٢-التعرف على أحد أسباب الفقد فى إنتاج الغذاء بسبب النشوء الوراثي للسلالات الفسيولوجية الجديدة من المسببات المرضية المختلفة التى تقوم بكسر صفة المقاومة فى العائل النباتي .

١٣-التعريف بجهود العلماء فى مجال علم الوراثة وأمراض النبات من خلال نظرية الجين للجين وإنتاج نباتات معدلة وراثيا بجينات معينة لدعم صفات المقاومة لأمراض النبات .

ومن خلال الإلمام بمحتويات هذا الكتاب ينبغي أن تتحقق الأهداف التالية للقارئ :

١- تحديد عوامل تطور المسببات المرضية من الناحية الوراثية ونشأة السلالات الفسيولوجية .

٢- تفسير أسباب التدهور فى إنتاج وجودة الغذاء .

٣- تحديد مدخلات ومخرجات نظام التطور الوراثي لمسببات أمراض النبات .

٤- التعرف على المقومات الوراثية لمكافحة مسببات أمراض النبات .

٥- اكتساب مهارات البحث العلمي من خلال الملاحظة ورصد الظواهر وتسجيل النتائج وتفسيرها .

٦- تنمية المهارات الوراثية لدى المتخصصين وعلاقتها بعلم أمراض النبات ووراثة المسببات المرضية .

٧- الوعي بدور الوراثة فى البيئة ومواجهة مسببات أمراض النبات واستثمار الموارد البيئية .

٨- الوعي بالمشكلات البيئية الناتجة عن عوامل حية وأثرها على المنتج الغذائي كما ونوعا .

٩- اكتساب مهارات وراثية من شأنها نحو المحافظة على البيئة من مسببات أمراض النبات .

١٠-ربط العلاقة بين النبات والمسببات المرضية على أسس وراثية للتأكيد على خصوصية هذه العلاقة والتعريف بدور الإنسان فى صنع صفة المقاومة فى النبات لمواجهة السلالات الفسيولوجية الجديدة من المسببات المرضية .

١١-الوعي بدور الطفرات الوراثية فى نشأة سلالات فسيولوجية جديدة من مسببات أمراض النبات تعمل على كسر صفة المقاومة فى النبات .

١٢-الوعي بأهمية ودور الهندسة الوراثية فى إدخال صفات المقاومة فى النبات وبإيجابيات وسلبيات الهندسة الوراثية فى هذا المجال .

١٣ -الوعي بدور الطفرات فى إنتاج أصناف مقاومة من النباتات لمسببات مرضية معينة .

السيرة التعريفية

- الاسم : أ . د . خليفه عبد المقصود زايد .
- من مواليد : محافظة البحيرة عام ١٩٦٠ م .
- تخرج من شعبة الوراثة بكلية الزراعة بجامعة الإسكندرية ١٩٨١ م .
- تدرج في الوظائف الجامعية بكلية الزراعة – جامعة المنصورة من معيد إلى مدرس مساعد، مدرس ، أستاذ مساعد ، ثم أستاذ للوراثة بالكلية ، ويعمل حاليا رئيسا لمجلس قسم الوراثة بكلية الزراعة – جامعة المنصورة .
- شارك في بعض المؤتمرات الدولية التابعة للجمعية المصرية للميكروبيولوجيا التطبيقية بالقاهرة وفي عدد من الندوات والمؤتمرات الدولية بالمملكة العربية السعودية وبدولة قطر ودولة الكويت ونُشر عددا من أبحاثه في مؤتمرات ومجلات دولية متخصصة .
- شارك ببحث وبورقة عمل ألقاها في مؤتمر الخليج الخامس للمياه الذى عقد بالدوحة في مارس ٢٠٠١ ، كما شارك ببحث ألقاه في مؤتمر الخليج السابع للمياه الذى عقد بدولة الكويت خلال الفترة من ١٩ – ٢٣ نوفمبر ٢٠٠٥م .
- للكاتب العديد من البحوث والمحاضرات. في مجال الوراثة والتكنولوجيا الحيوية وتلوث البيئة منشورة بمجلات ومؤتمرات مصرية ودولية .
- أنجز العديد من رسائل الماجستير والدكتوراة في مجال التخصص ويشرف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراة في مجال وراثة الأحياء الدقيقة بكلية الزراعة بجامعة المنصورة .
- شارك كمحكم في العديد من لجان المناقشة والحكم على رسائل الماجستير والدكتوراة في مجال الوراثة بعدد من الجامعات المصرية المختلفة .
- شارك كباحث في عدد من المشروعات البحثية التطبيقية المرتبطة بالتخصص في مجال البيئة والمتعلقة ب : استخدام الطرق الوراثية في تطوير المعالجة الميكروبية للمخلفات الصناعية السائلة ، وفي التسميد الحيوي لبعض النباتات الاقتصادية بسلالات بكتيرية معدلة وراثيا ، وفي المكافحة الحيوية لبعض الحشرات باستخدام سلالات بكتيرية

محورة وراثيا ، وجميعها من المشاريع صديقة البيئة والتى تهدف فى النهاية إلى الحد من تلوث البيئة .

- الكاتب باحث رئيسي لمشروع دولي ممول من دولة الإمارات العربية المتحدة فى مجال استخدام التقنيات الوراثية فى السيطرة على تلوث المخلفات الصناعية السائلة بالمعادن الثقيلة .

- الاسم : أ . د . كوثر سعد قش .
- من مواليد : المحلة الكبرى عام ١٩٤٦م .
- تدرجَت في الوظائف الجامعية بكلية الزراعة – جامعة المنصورة من معيد إلى مدرس مساعد ، مدرس ، أستاذ مساعد ، ثم أستاذ للوراثة بالكلية ، وعملَت سابقا كرئيس لمجلس قسم الوراثة بكلية الزراعة – جامعة المنصورة .
- تخرجَت من كلية الزراعة – جامعة كفر الشيخ عام ١٩٦٧ .
- نشَرت العديد من الأبحاث فى مجال الوراثة بدوريات علمية مختلفة .
- أنجزت العديد من رسائل الماجستير والدكتوراة فى مجال التخصص وتشرف على عدد من رسائل الماجستير والدكتوراة فى مجال الوراثة بكلية الزراعة بجامعة المنصورة .
- شاركت كمحكم فى العديد من لجان المناقشة والحكم على رسائل الماجستير والدكتوراة فى مجال الوراثة بكلية الزراعة – جامعة المنصورة .

الفهرس

المقدمـــة

يعد علم الوراثة وأمراض النبات من الموضوعات الهامة التى من خلالها يجب أن يلم المتخصص فى مجال أمراض النبات بطبيعة الجهاز الوراثي فى مسببات أمراض النبات وعن كيفية نشوء السلالات الفسيولوجية فى هذه المسببات المرضية والتى عادة ما تكون أشد ضراوة من المسبب المرضي الأصلي ، علاوة على أن هذا الكتاب سيوضح للدارس والباحث فى مجال أمراض النبات كيفية استخدام التقنيات الوراثية فى دعم صفات المقاومة الحيوية فى النبات من خلال إنتاج نباتات معدلة وراثيا بجينات معينة لمقاومة مسببات مرضية معينة للنبات ، وهذا الكتاب هو مدخل لبرنامج أمراض النبات ، حيث ان التربية لمقاومة الأمراض تعد أحد الأهداف في برنامج تربية النبات ، خاصة وأن بعض المسببات المرضية لا يمكن مقاومتها بأى وسيلة أخرى ، وبصفة خاصة مع ازدياد الوعي بخطورة مبيدات الآفات على الإنسان والبيئة. والآن هناك مجال يسمى الأمان الحيوي وتقييم المخاطر الناجمة عن التلوث البيئي بالملوثات ومنها المبيدات. وهذا مجال إهتمام وكالة حماية البيئة الأمريكية ووكالات أخرى لحماية الإنسان والكائنات الحية من الضرر الوراثي الناتج عن استخدام المبيدات ، فلقد نجحت الأصناف المقاومة فى تفادي المزارعين فى جميع أنحاء العالم لخسائر تقدر بملايين الدولارات ، كما وفرت عليهم جزءا كبيرا من تكاليف المقاومة الكيميائية للمسببات المرضية المختلفة علاوة على الحفاظ على البيئة من استخدام كم هائل من الكيماويات فى برامج المكافحة الكيميائية ، فبدون توفر الأصناف المقاومة للأمراض لا يمكن زراعة بعض المحاصيل فى مناطق معينة من العالم بسبب تواجد مسببات تلك الأمراض فى هذه المناطق بصورة ثابتة . وبالرغم من أن التربية لمقاومة الأمراض لم تنجح فى إنتاج أصناف من الحبوب الرفيعة ذات المقاومة الثابتة لبعض الأمراض كالأصداء والتفحمات والبياض الدقيقي ، بسبب إنتاج مسببات تلك الأمراض لسلالات فسيولوجية جديدة أشد ضراوة من المسبب المرضي الأصلي وقادرة على كسر مقاومة تلك الأصناف ، إلا أن الأصناف المقاومة نجحت فى منع ظهور تلك الأمراض بصورة وبائية ، وبذلك فإنها ساعدت على ثبات الإنتاج الزراعي من تلك المحاصيل .

ومع ذلك فإن المسلم به هو أن التربية لإنتاج أصناف جديدة مقاومة للأمراض عملية بطيئة ، إذ إنها تستغرق من ١٠ – ١٥ سنة (وربما تقل تلك المدة عن ذلك إذا أمكن زراعة أكثر من جيل من المحصول فى نفس العام) ، وبمقارنة التربية لمقاومة الأمراض باستخدام المبيدات يتبين أن تكاليف إنتاج الصنف الجديد المقاوم أقل بكثير من تكاليف إنتاج أى مبيد ، وبالرغم من أهمية الأصناف المقاومة فإن المقاومة مهما كانت قوتها لا يجب أن تكون سببا فى إهمال العمليات الزراعية الأخرى التى من شأنها خفض شدة الإصابة ، فيتعين مثلا الاستمرار فى الدورة الزراعية حتى مع الأصناف المقاومة للأمراض التى تكون الإصابة فيها عن طريق المجموع الجذري ، لأن ذلك يؤدى إلى تقليل احتمال ظهور وانتشار سلالات فسيولوجية جديدة من المسبب المرضي .

فعلم أمراض النبات هو العلم الذي يدرس الكائنات الحية والظروف البيئية التي تسبب المرض في النبات ، كما يدرس الميكانيكية التي بها تُحدث هذه العوامل أمراضا للنبات والتفاعل بين العوامل المسببة المرض والنبات المريض وكيفية منع المرض لتخفيف الأضرار المتسببة عنه أو مقاومته قبل أو بعد ظهوره على النبات.

يستعمل علم أمراض النبات المعلومات الأساسية والتقنية لكل من علم الوراثة والهندسة الوراثية بجانب العلوم الأخرى حيث لا غنى عنها في حل بعض مشاكل أمراض النبات .

ويمكن القول أن الأمراض النباتية تتسبب عن :

١- أمراض متسببة عن فطريات .

٢- أمراض متسببة عن ذوات النواة الأولية (بكتريا وميكوبلازما) .

٣- أمراض متسببة عن نباتات راقية متطفلة .

٤- أمراض متسببة عن فيروسات وفايرويدات .

٥- أمراض متسببة عن نيماتودا .

٦- أمراض متسببة عن بروتوزوا .

أما علم الوراثة فإنه يدرس المعلومات الوراثية التى تحدد للكائن الحي ما هو وما يستطيع أن يقوم به .هذه المعلومات التى تكون في صورة رموز علي الحمض

النووى DNA للكائن (دي اوكسي ريبو نيوكلك أسد) أما فـــي الفيروســـات ذات (الريبونيوكليك أسد) RNA فإنها طبعا تكون محمولة على ال RNA علـــي شـــكل رموز . وفى كل الكائنات فان معظم الــ DNA يكون موجودا في الكروموســـوم سواء كان واحدا أو أكثر .ففى الكائنات الحية غير مميزة النواة، وهي كائنات حيه تفتقر إلى التعضي وتفتقر إلى الأغشيه الضامة للنواة مثل البكتريا والميكوبلازما ، فهناك كروموسوم واحد فقط موجود في السيتوبلازم ، بينما في الكائنـــات الحيـــة الحقيقية ذات الأنوية المميزة ، وهي تشمل جميع الكائنات الحية الأخـــرى ، فـــان النواة فيها العديد من الكروموسومات زيادة علي ذلك فإن جميع خلايـــا الكائنـــات حقيقية النواة تحمل DNA في الميتوكوندريا بالإضافة إلى الــ DNA الموجود فـــي البلاستيدات الخضراء ، في خلايا النبات فى معظم إن لم يكن في كل الكائنات غير مميزة النواة ، وعلي الأقل في بعض الكائنات حقيقية النواة الدنيئة فهي أيضا تحمل في السيتوبلازم جزيئات دائرية صـــغيرة مـــن الـــ DNA تســـمى بلازميـــدز Plasmids.وكذلك فإن DNA البلازميدى يحمل أيضـــا معلومـــات وراثيـــة ولكنـــه يتضاعف وينتقل مستقلا عن الــ DNA الكروموسومي .

نبذة تاريخية :

لوحظ منذ زمن بعيد وجود اختلافات بين الأصناف فى درجة تحملها لمسببات أمراض النبات ، ففي منتصف القرن التاسع عشـــر لاحـــظ T. A. Knight فـــى إنجلترا أن أصناف القمح تختلف في درجة مقاومتها لمرض صدأ الســـاق الأســـود وغيره من الأمراض الأخرى ، وبعد ذلك بســـنوات قليلـــة ذكـــر Berkeley أن أصناف البصل البيضاء تصاب بشدة بمرض الاسوداد ، بينما لا تصاب الأصـــناف ذات الأبصال الملونة ، وفي عام ١٩٨٨ تمكن Millardet فى فرنسا من إنتـــاج عنب مقاوم لمرض البياض الدقيقي بتلقيح الأصناف الأوربيـــة القابلـــة للإصـــابة بالمرض مع الأصناف الأمريكية المقاومة ، وفي عام ١٩٠٥ نشـــر Biffen أول دراسة عن مقاومة الأمراض فى النباتات ، وكان ذلك عن مقاومة مـــرض الصـــدأ الأصفر فى القمح ، فقد أجري Biffen تلقيحا بين صـــنف مقـــاوم وآخـــر قابـــل للإصابة ، ولاحظ حدوث انعزال فى الجيل الثاني بنسبة ٣ قابـــل للإصـــابة : ١ مقاوم ، واستنتج أن المقاومة يتحكم فيها عامل وراثي واحد متنحي ، وقد تبين بعد ذلك أن الأصناف المقاومة فى منطقة ما لم تكن مقاومة فى منطقة أخرى ، مما أدى إلى إثارة الشكوك حول نتائج Biffen بشأن الوراثة المندلية لصفات المقاومة فـــى

النبات ، وقد عرف فيما بعد أن تلك الحالة كان مردودها ظهور سلالات جديدة من الفطر المسبب للمرض .

ومعظم الأنواع النباتية تعد بطبيعتها مقاومة لمعظم الآفات ، والدليل على ذلك أن أى طفيل يمكنه اختراق عديد من الأنواع النباتية ، ولكنه لا يمكنه الاستمرار فى النمو ، وإحداث إصابة مرضية إلا في قليل جدا من تلك الأنواع النباتيـــة ، أى أن المناعة ضد الإصابة بمعظم مسببات الأمراض هي الظاهرة الشائعة فى الطبيعة ، وقد تطورت تلك المناعة على مر العصور من جراء تواجد العائل والطفيل معا مع حدوث الانتخاب الطبيعي بصورة دائمة لصالح الطرز النباتية المقاومة لتلك الآفات، والدليل على ذلك أن تعرض العشائر الطبيعية للنباتات فـــى المنـــاطق الجغرافيـــة المعزولة لطفيل جديد قام بفرو تلك المناطق كثيرا ما يؤدي إلى حـــدوث إصـــابات وبائية بتلك الطفيليات ، ومن أمثلة ذلك الأوبئة التى حدثت فى الولايـــات المتحـــدة بالنسبة لأمراض : لفحة أشجار الكســـتناء Chestnut Blight ، والصـــدأ البثـــري لأشجار الصنوبر الأبيض White pine blister rust، ومـــرض أشـــجار الـــدردار Dutch elm disease فى الولايات المتحدة الذي قضى على جانب كبير من أشـــجار الدردار ، مما حفز المهتمين بهذه الشجرة إلى البحث عن مصـــدر لمقاومـــة هـــذا المرض ، إلى أن وجدوا ذلك فى شجرة وحيدة بعد ٣٠ عاما من الدراسة .

حدثت إصابة للشوفان خلال الأربعينات فى الولايات المتحـــدة بوبـــاء لفحـــة فيكتوريا Victoria bilight الذي يســـببه الفطـــر *Helminthosporium victoriae* بسبب انتشار زراعة عديد من الهجن القريبة من بعضها وراثيا فى اكثر من ٨٠% من مساحة الشوفان خلال عام ١٩٤٥ ، حيث أدى ذلك إلى انتشار الوبـــاء خـــلال عامي ١٩٤٦ و ١٩٤٧ ، وقد أمكن التغلب على تلك المشكلة بإدخال أصناف جديدة مقاومة للمرض فى الزراعة .

فى بداية السبعينات حدثت إصابة للذرة فى الولايات المتحدة (خـــلال عـــامي ١٩٧٠ ، ١٩٧١) بوباء لفحة أوراق الـــذرة الجنوبيـــة التـــى يســـببها الفطـــر *Cochliobous heteroetrophus* بسبب انتشار زراعة هجن من الذرة تعتمد علـــى سيتوبلازم عقيم الذكر ، كان قد حصل عليه مـــن تكســـاس T - type cytoplasm فى أكثر من ٨٠% من مساحة الذرة وقد أمكن التغلب على تلك المشكلة بإدخـــال أصناف جديدة مقاومة للمرض .

ويعد R. H. Biffen أول من طبق قوانين منـــدل علـــى وراثـــة المقاومـــة للأمراض ، وكان ذلك على مرض الصدأ المخطط فى القمح الذي يســببه الفطـــر Puccinia glumarum ، وقد بدأ Biffen دراسته بعد اكتشاف قوانين مندل مباشرة ، ونشرها فى عام ١٩٠٥ ، حيث قدم أول دليل علمي على أن المقاومة للأمـــراض صفة وراثية تنعزل مثلما الصفات النباتية الأخرى ، وكانت المقاومة للمرض فـــى هذه الدراسة صفة بسيطة ومتنحية .

كان Eriksson عام ١٨٩٤ هو أول من أوضح أن الأنواع الفطرية تحتـــوى على سلالات تختلف فى تطفلها ، أى فى قدرتها على إحداث المرض ، فقد وجد أن فطر الصدأ الأسود *Puccinia graminis* المعزول من نباتات القمح المصـــابة لـــم يتمكن من إصابة الشوفان والشيلم وبعض النجيليات الأخرى ، وتبين أن العـــزلات التى أخذت من مدى من العوائل كانت قادرة على إصابة عوائل معينة دون غيرها، وحدا ذلك بـــ Eriksson إلى تقسيم النوع *P. graminis* إلى عـــدة تحـــت أنـــواع Subspecies . وقد تبين بعد ذلك أن أنواع وتحت أنواع الفطريات تختلـــف فـــى قدرتها على إصابة أصناف وسلالات العائل الواحد ، وكان Barrus عام ١٩١١ هو أول من أوضح ذلك بتمييزه لسلالتين (ألفا وبيتا) مـــن الفطـــر *Colletotrichum lindemuthianum* (المسبب لمرض الانثراكتوز) اختلفا فـــى قـــدرتيهما علـــى إصابة أصناف الفاصوليا ، كما تبين فيما بعد بواسطة Stakman وغيره وجود عدد كبير من السلالات الفسيولوجية ضمن تحت النـــوع *P. graminis* التـــى حـــددها Eriksson .

الباب الاول

الفصل الأول

المادة الوراثية فى خلايا الكائنات الحية

الأهداف : من المتوقع فى نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يوضح العلاقة بين علم الوراثة وعلم أمراض النبات .

٢- يستنتج مسببات الأمراض النباتية .

٣- يستنبط المعلومات الوراثية فى الكائن الحى وتلك الموجودة فى المسببات المرضية .

٤- يشرح العلاقة بين جينات القابلية للاصابة فى العائل وجينات الشدة فى الكائن الممرض .

٥- يدرس ميكانيكية التباين التى تحدث فى الكائنات المختلفة .

المقدمة :

توضح الدراسة فى هذا الباب العلاقة بين علم الوراثة وأمراض النبات ، حيث إن المرض النباتى يتسبب عن كائنات مختلفة منها حقيقية النواة وغير حقيقية النواة،حيث يختلف تركيب كل منهما من الناحية الوراثية .فالكائنات الحقيقية النواة مثل الكائنات الراقية هى الكائنات المحتوية على نواة مميزة واضحة ذات تركيب وراثى معروف ، وتحتوى على أعداد مختلفة من الكروموسومات التى تحكم ظاهريا كل الصفات المتوارثة والتى تنتقل من جيل إلى جيل .فيتركب الكروموسوم من نوعين من الأحماض النووية هما الدى أوكسى ريبو نيوكليك أسدDNA، والريبونيوكليك أسدRNA بالإضافة إلى نوعين من البروتين هما الهستون والبروتامين . ولقد أثبتت الدراسات الوراثية بما لايدع مجالاً للشك بأن الأحماض النووية فقط هى الحاملة للمادة الوراثية ، أما البروتينات فهى مكملة لبناء

الكروموسوم. من ناحية أخرى فالكائنات غير المميزة النواة فإنها لاتحتوى على نواة مميزة وإنما تكون المادة الوراثية على شكل جزىء حلقى من الـ DNA كما فى البكتريا أو على شكل جزيئات صغيرة من الأحماض النووية DNA أو RNA كما فى الفيروسات .هذه الكائنات الحية تتباين من فرد إلى أخر وتختلف عن آبائها نتيجة للتكاثر الجنسى، ويحدث هذا التباين عن طريق العبور الوراثى وتكوين الإتحادات الجديدة والتوزيع العشوائى للكروموسومات والتحول الوراثى والتزاوج فى الكائنات الأولية والطفرات الطبيعية والصناعية والتنقل الوراثى للجينات .

إن أمراض النبات المعدية هى نتيجة التفاعل بين إثنين من الكائنات الحية على الأقل هما النبات العائل والكائن الممرض ، ويسيطر على صفات كل منهما مادتهما الوراثية الـ DNA أو الـRNA التى تشكل الجينات .

كروموسومات الكائنات حقيقية النواة

Eukaryotic Chromosomes

إذا رجعنا للتركيب الكيماوى للكروموسوم فإن الكروموسومات تعتبر هى التراكيب التى تحكم ظاهرياً كل الصفات المتوارثة فى الكائنات الحية، وعلى ذلك إذا أردنا أن نتعرف على طبيعة المادة الوراثية وكيفية إنتقالها من جيل إلى جيل فلابد وأن نرجع إلى الكروموسومات لنتعرف على تركيبها وكيف تؤدى وظائفها ولقد أثبتت الدراسات أن الكروموسومات فى جميع الكائنات الحية مميزة النواه Eukaryotes تتكون من أربعة مكونات أساسية هى:-

نوعين من البروتين هما Basic and residual protein ونسبتهما ٦٦% وأهم هذه البروتينات هى الهستون والبروتامين .

الحامض النووى DNA ونسبته حوالى ٢٧% .

الحامض النووى RNA ونسبته ٦% .

ولقد أثبتت الدراسات الوراثية بما لايدع مجالاً للشك بأن الأحماض النووية فقط هى الحاملة للمادة الوراثية، أما البروتينات فهى مكملة لبناء الكروموسوم وغير معروفة الوظيفة تماماً وإن كان يعتقد أنها تعمل كعوامل مساعدة فى النشاط الجينى وسوف نتناول هذه المكونات بشىء من التفصيل :

الأحماض النووية :

Nucleic acids

عندما أمكن فصل الأحماض النووية عن البروتينات المغلفة لها إتضح أنه يمكن تمييزها إلى نوعين من الأحماض النووية هما :

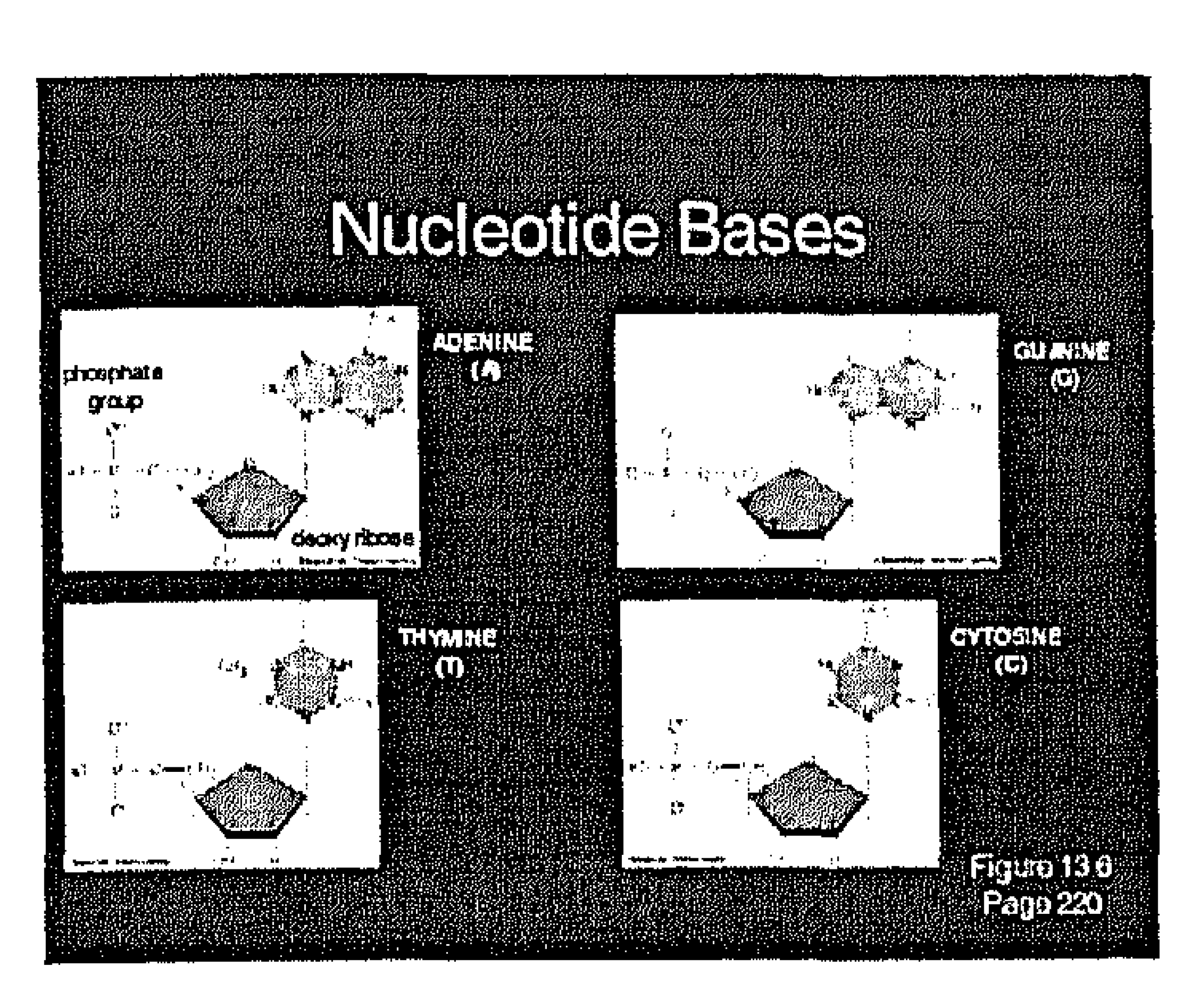
الحامض النووى ديزوكسى ريبوز Desoxyribonucleic acid (DNA) .

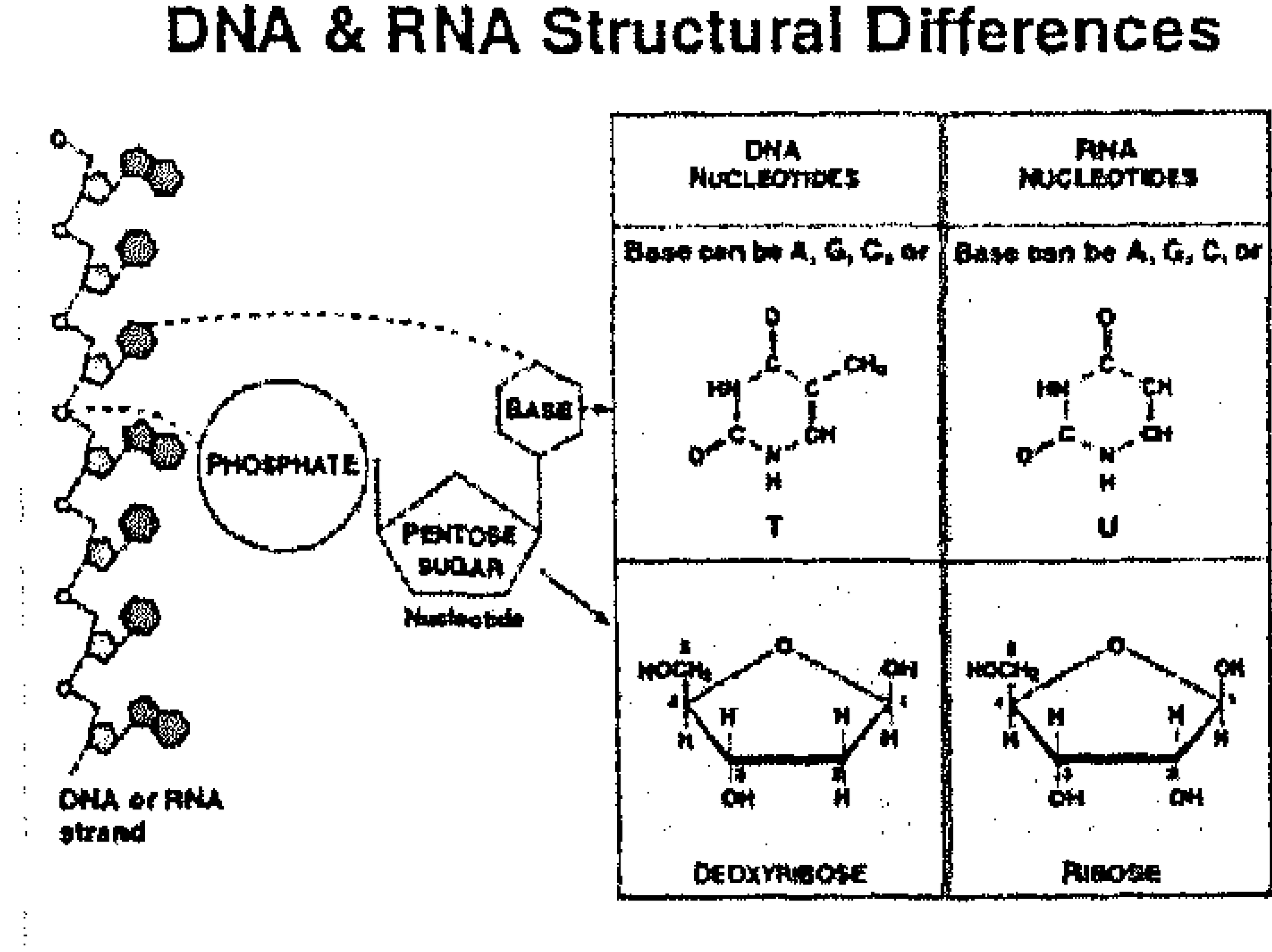
الحامض النووى الريبوزى Ribonucleic acid (RNA) .

أما النوع الأول فهو المسئول أساساً كمكون للكروموسومات حيث أنه يوجد بصورة عامة فى النواة ، أما النوع الثانى فلا دخل له فى تكوين الكروموسومات ويوجد دائما فى السيتوبلازم وبكميات وفيرة جداً ، ويتواجد معاً كلا نوعى الأحماض النووية DNA و RNA فى كل الكائنات ماعدا الفيروس، حيث أنه يحتوى على أحدهما فقط وهذا دفع العلماء إلى إعتبار الفيروسات مادة حية وليست كائنات حية حيث أنه بفقدها أحد الحمضين النوويين تفقد القدرة على التمثيل الغذائى والتكاثر الذاتى، حيث إن كليهما يستلزم تخليق البروتين ، وهذا لا يتيسر إلا بوجود كلا نوعى الأحماض النووية (DNA , RNA) ويتركب كلا النوعين من الأحماض النووية من جزىء طويل من سلاسل تعرف بالنيوكليتدات Nuceleotides (وهو حلزون مزدوج فى حالة ال DNA وسلاسل مفردة فى حالة ال RNA) وكل نيوكليتيدة تتكون أساساً من وحدة سكر خماسى الكربون يعرف باسم سكر الريبوز Ribose كما فى حالة الحامض النووى RNA والذى يستبدل بنوع آخر من سكر خماسى يعرف باسم 2-Deoxy-ribose فى الحامض النووى DNA، ويتكون هذا النوع من السكر من سكر الريبوز بفقد ذرة أكسجين من الموضع الثانى .

وبالإضافة إلى السكر الخماسى يدخل فى تركيب كل نيوكليتيدة فى كلا الحامضين النوويين مجموعة فوسفات وكذلك إحدى القواعد النيتروجينية التى قد تكون أحادية الحلقة النيتروجينية كالبيراميدينات Pyrimidines أو ثنائية الحلقة النيتروجينية كالبيورينات Purines (شكل رقم ١) ولقد وجد أن أهم البيرميدينات هما السيتوسين (C) Cytosine ، الثيامين Thymine وكلاهما يدخل فى تركيب نيوكليتدات الحامض النووى DNA ، أما فى حالة RNA فتحل قاعدة اليوراسيل

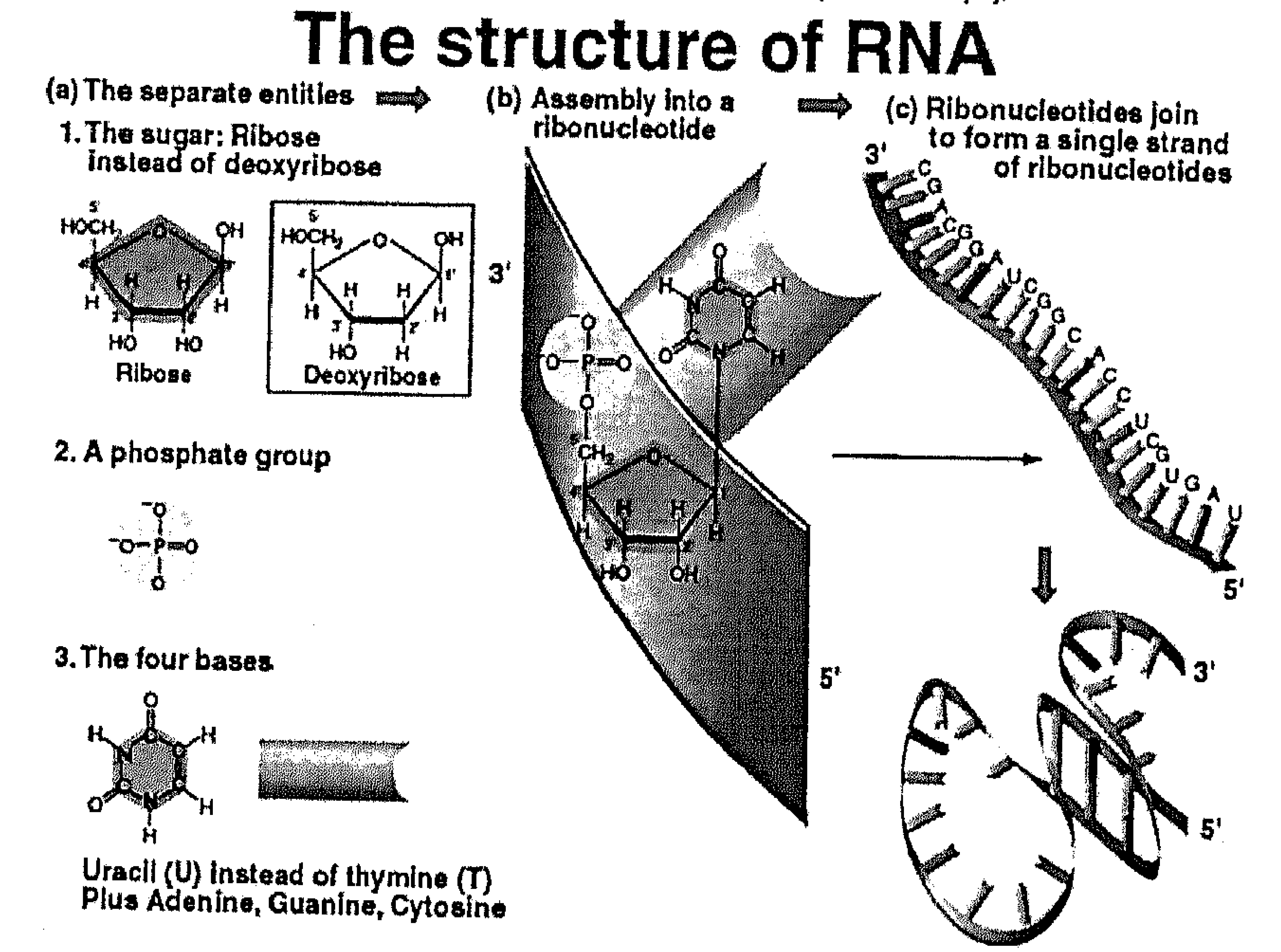
Uracil محل الثيامين دائما، وهذه لا توجد في DNA ، أما البيورينات فهما الأدنين (A) Adenine و الجوانين (G) Guanine ويوجدا معا في كلا الحامضين النوويين .





شكل رقم ١ . يوضح السكر الخماسي والقواعد النيتروجينية التي تدخل في تركيب الأحماض النووية وكذلك تتابع النيوكليتيدات في سلسلة الأحماض النووية

وبالإضافة إلى الفرق الملاحظ بين كل من RNA و DNA من حيث نوع السكر وأنواع القواعد النيتروجينية ومقدرة DNA على التضاعف Replication بعكس الـ RNA الذي ليس له هذه المقدرة ، فإن سلاسل نيوكليتدات DNA غالبا ما تكون أطول كثيراً ومزدوجة بعكس RNA الذي يتكون دائما من سلاسل مفردة. وفي النيوكليتيدة ترتبط القاعدة النيتروجينية مع السكر برابطة جليكوسيدية ويرتبط السكر بدورة بالفوسفات بواسطة إستر شكل رقم ٢ .



شكل رقم ٢.يوضح تركيب الحامض النووى RNA

تعبير الجينات :

Gene expressions

يكون مسار التعبير الوراثى للجينات وتأثيرها على الشكل المظهرى للكـائن مـن خلال المعادلة التالية:-

DNA ⟹ RNA ⟹ Protein

حيث يتم نسخ الـ DNA على الـ mRNA بواسطة أنزيم RNA polymerase ثم يتم الترجمة فى الريبوسوم بطريقة معقدة. وهذا المسار الخلوى يتضمن زيادة فى تعقيد الآداء الوظيفى للعضيات الخلوية وبذلك تعتبر النواة وبالأخص الـ DNA الموجود بها هو مركز التحكم فى أوجه النشاط الخلوى بالخلية، وبذلك فإنـه لابـد وأن يتحكم الـ DNA فى بناء البروتينات والإنزيمات المختلفة حيث تصنع فـى

سيتوبلازم الخلية أساساً والمادة التى تعمل كوسيط يحمل المعلومات الوراثية من الـ DNA إلى السيتوبلازم حيث يتم بناء البروتين الخاص بهذه الرسالة المحمولة على الـRNA الرسول ويسمى (messenger RNA).

إن المعلومات الو راثية في الـ DNA تكون على هيئة رموز (شفرة) فى شكل خيطي لتتابع الأربع قواعد وهي أدنين، سيتوزين، جوانين، ثيامين. كل ثلاثة قواعد متجاورة تكون شفرة لحمض أميني معين والحامض الأمينى كما نعلم هو الوحدة البنائية للبروتين .

إن الجين عبارة عن تتابع من الـDNA يحمل الشفرات ، ففى الكائنات مميزة النواة ، الجين يتكون من مناطق غير مشفرة تسمي إنترونز Introns وأخرى مشفرة تسمى Exons إكسون وهى المسؤلة عن بناء البروتين. عندما يكون الجين نشطاً (شكل رقم ٣) فهذا يعني أن الجين يعمل على بناء البروتين الخاص به عن طريق واحدة من سلاسل الـDNA التى يتم نسخها إلى RNA الرسول بمساعدة أنزيم RNA polymerase وذلك فى النواة والذى يخرج إلى السيتوبلازم بعد تجهيزه لتتم عليه عملية الترجمة بمساعدة أنواع أخرى من الـRNA تساعد فى بناء البروتين، هو الـ RNA الناقل ويسمى tRNA (وهو الذى يرتبط بالأحماض الأمينية بعد تنشيطها ليحملها ويضعها فى ترتيبها الصحيح فى السلسلة الببتيدية حسب تتابع الشفرات على الـRNA الرسول) ونوع آخر يسمى الريبوسومى rRNA (وهو المكون الأساسى للريبوسوم وهى العضية الخلوية التى تتم فيها إستطالة السلسلة الببتيدية المكونة للبروتين)..كل جين يعطى شفرة لبروتين مختلف، هذه البروتينات التي تكون أما أجزاء من تركيب أغشية الخلية أو تعمل كأنزيمات، وهذا يعطى الخلايا والكائن الحى الصفات المميزة مثل الشكل، الحجم، واللون وتحدد ما هى أنواع المواد الكيماوية المنتجة بواسطة الخلية .

تعتمد الخلية الحية فى بنائها ووظيفتها على البروتينات المختلفة الموجودة بها وهذه البروتينات تنقسم إلى بروتينات وظيفية مثل الإنزيمات وبروتينات أُخرى تركيبية تدخل فى بناء الأغشية والعضيات المختلفة بالخلية وبذلك تعتبر هذه البروتينات هى أساس بقاء الخلية وأساس لوظيفة الخلية أيضا . فالتركيب الأولى للبروتين هو عبارة عن سلسلة من عديدة الببتيد Polypeptide chain مكونة من أحماض أمينية مرتبطة ببعضها بواسطة روابط ببتيدية وهذا التركيب يشبه لحد ما تركيب الأحماض النووية والتى تتركب من سلسلة عديدة النيوكليتيدات Polynucleotide chain تتحد فيها النيوكليتيدات مع بعضها بواسطة رابطة فوسفو داى إستر Phospho-diester linkage .

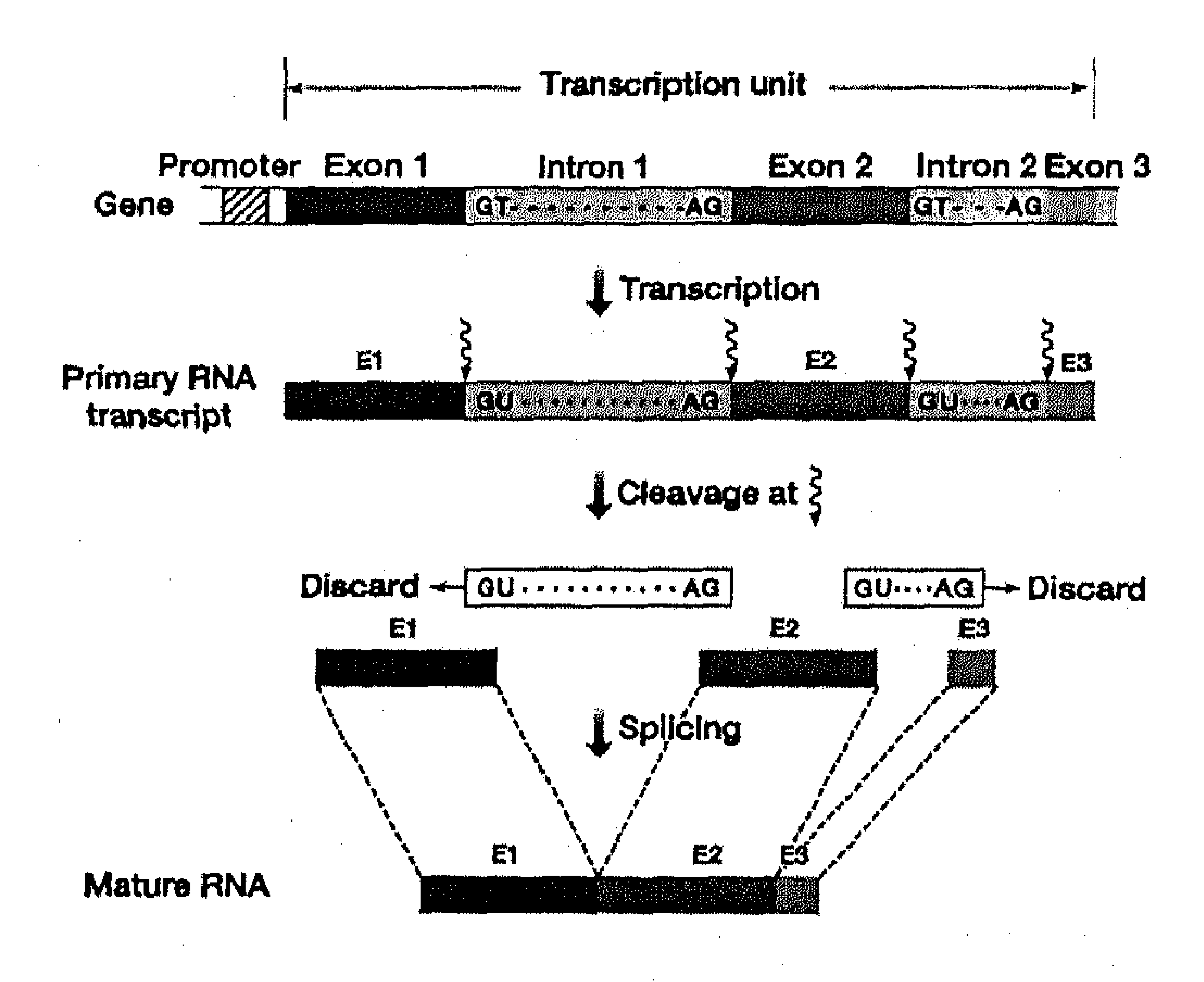
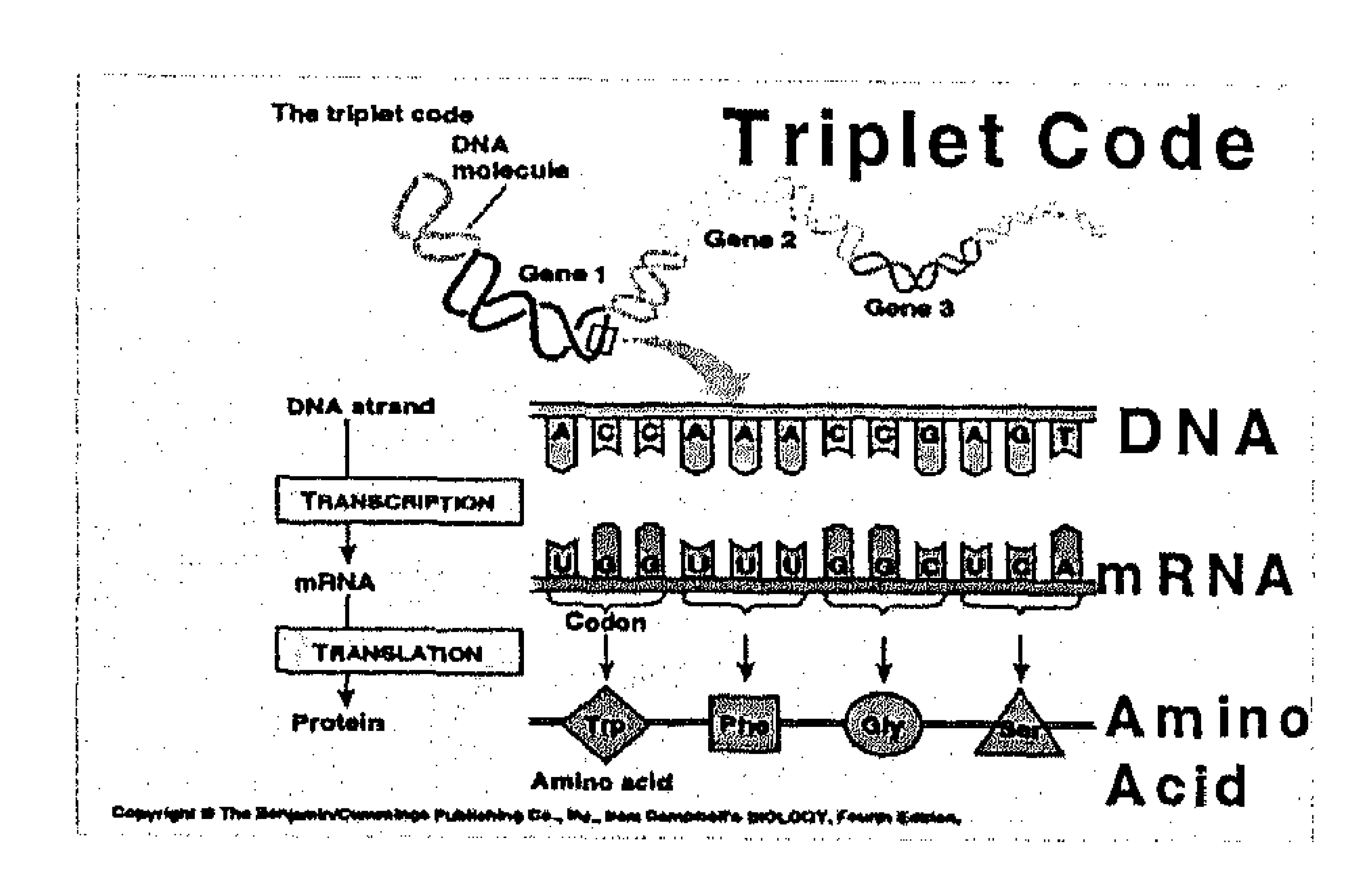


Figure 1-14 Human Molecular Genetics, 3/e. (© Garland Science 2004)

شكل رقم ٣ . يوضح أن ترتيب النيوكليتيدات فى جينات الكائنات حقيقية النواة تكون متقاطعة بمناطق غير مشفرة من الـ DNA تسمى إنترونز والنيكلوتيدات التي تنسخ إلى RNA الرسول بنفس الإكسونات Exons

إن الجين يظهر مفعولة عندما ينسخ إلي mRNA (شكل رقم ٤) وأن هذا الأخير يترجم إلي بروتين والذي ينقل بعد ذلك إلي أماكن خاصة في الخلية حيث يقوم بعمله الطبيعي . إن توقيت ودوام ومعدل إظهار الجين لمفعوله كلها تكون منظمة بواسطة العديد من الميكانيكيات المسيطرة الداخلية والخارجية . مثل هذه الميكانيكيات يمكن أن تتضمن جينات منظمة أخرى ، مناطق مشجعة أمام الجين الفعلي ، علامات علي بدايات ونهايات الـ DNA والـ (mRNA) ومنظمات نمو موجودة علي مراحل تكشف معينة للخلايا والنباتات ، الظروف البيئية مثل الضوء والتغذية وغيرها كثير .



شكل رقم ٤ . يوضح عملية النسخ والترجمة للمعلومات الوراثية المحمولة على DNA إلى أحماض أمينية تكون سلسلة ببتيدية معينة

كروموسومات الكائنات غير حقيقية النواة

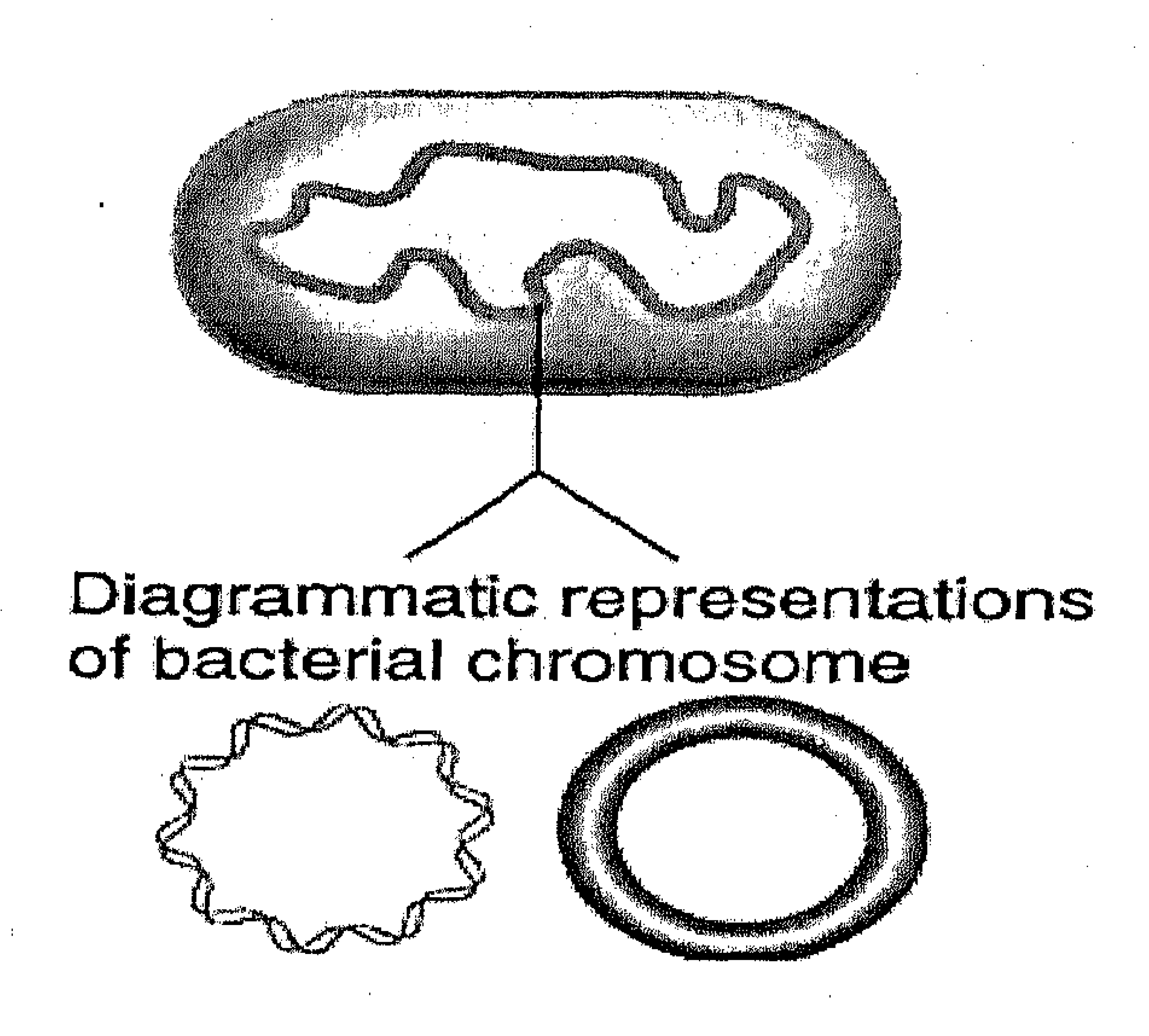
Prokaryotic chromosomes

١- الكروموسوم البكتيرى

Bacterial chromosome

تنتظم المادة الوراثية فى البكتريا *E coli* على شكل جزىء حلقى من DNA يبلغ طول محيطه حوالى ١١٠٠ ميكرون، وحيث أن الخلية البكتيرية قطرها

١-٢ ميكرون، فإنه يتضح أن الكروموسوم لابد أن يوجد فى شكل شديد التحلـزن داخل الخلية (شكل رقم ٥) . حيث يختلف كثيراً عـن كروموسـومات الكائنـات الراقية فى عدم إحتواءه على هستونات، ويطلق عليه إسم ثيتا كروموسـوم، لأنـه يأخذ شكل الحرف اليونانى سيتا أثناء التضاعف والوزن الجزيئـى لكروموسـوم E. coli هو ٢ × ١٠ ٩ دالتون بما يساوى ٣ × ١٠ ٦ زوج مـن النيوكليتيـدات المقترنة تقريباً وإذا ترك الجزىء كشريط طولى سيصل طوله إلى حوالى ١ مللى أى حوالى ٥٠ ضعف طول خلية البكتيريا ، ولذلك فإن أطراف هذا الكروموسـوم تلتصق مع بعضها لتكون جزىء دائرى ينطوى على نفسه بشدة ليصل إلى مرحلة الحلزنة الفائقة فى النهاية لطوله الكبير وهو لا يشغل أكثر من ٢٠% مـن حيـز الخلية .



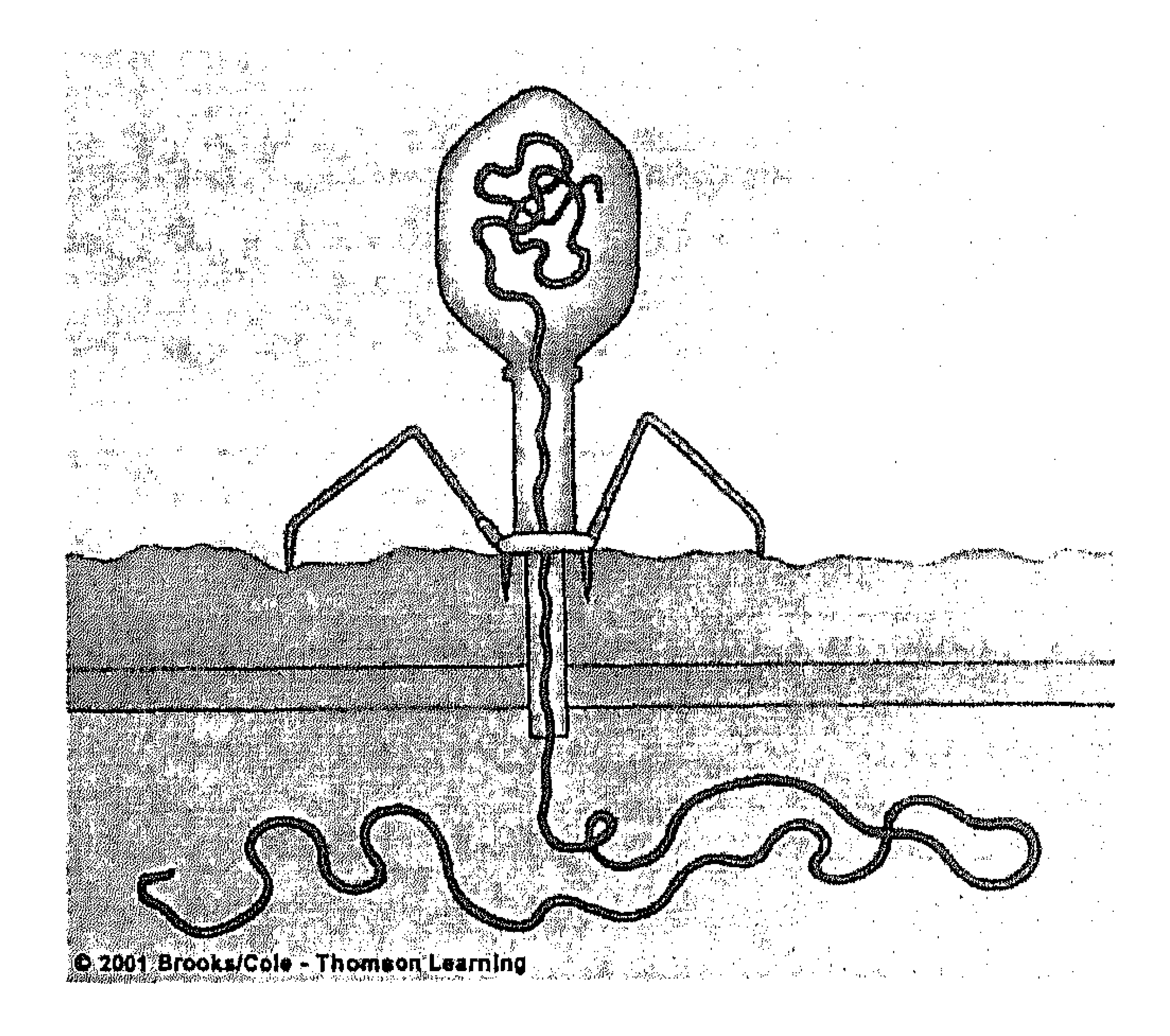
شكل رقم ٥ : الكروموسوم البكتيري الحلقي فى *E coli*

وهو عبارة عن جزىء حلقى من الـ DNA

٢- الكروموسوم الفيروسى :

Virus chromosome (Episome)

تنتظم المادة الوراثية للفيروسات فى جزيئات صغيرة من الأحماض النووية فقد تكون حلزون مزدوج من DNA مثل فيروس موزايك القرنبيط أو ذراع مفرد من الـ DNA مثل فيروس الجوزاء أو حتى جزىء من RNA (شكل رقم ٦) ويطلق على هذه الوحدات إسم Episomes حيث لوحظ أنها قادرة على التضاعف بعد إندماجها بكروموسوم خلية العائل. ومن أكبر الفيروسات حجما تلك التى تتطفل على البكتريا والتى يطلق عليها البكتيريوفاج Bacteriophages وتختص كل مجموعة منها بالتطفل على نوع بذاته من البكتريا، والفاجات المتطفلة على خلايا *E. coli* تتراوح كمية DNA بها إلى القدر الذى يشفر إلى حوالى ١٧٠ جين كما فى حالة الفاج الكبير (T4) إلى القدر الذى يشفر ثلاثة جينات فقط كما فى الفاج الصغير ϕx 174 وقد لوحظت ظاهرة خاصة بكروموسومات الفاجات دون غيرها من الكائنات وهى أن الـ DNA فى الفاجات المختلفة قد يختلف ترتيبه من خلية إلى أخرى، فعلى سبيل المثال الفاجات من نوع T7 لا يختلف فيها ترتيب DNA من خلية لأخرى وإن كانت تنتهى بمقاطع متكررة Repetitive ends ، أما الفاجات لامدا فهى أيضا تحتوى على DNA متماثل بين الخلايا وإن كانت تمتاز بنهايات قابلة للإلتحام حيث تكون نهايات سلاسل DNA مفردة Cohesive ends ، وعلى ذلك فإن الفاجات من نوع لامدا يمكن أن تأخذ الشكل الحلقى عن طريق إلتحام نهاياتها القابلة للإلتحام.



شكل رقم ٦ . المادة الوراثية في البكتيريوفاج **Bacteriophage**

وبصفة عامة فإن كروموسومات الكائنات الحية بدائيـــة النـــواة Procaryotic chromosome هى ببساطة عبارة عن جزىء من DNA يتضـــاعف بالطريقـــة نصف المحافظة من نقطة بداية فردية ، بينما فى الكائنات الحيـــة مميـــزة النـــواة Eucaryotes فإن الكروموسومات تكون عبارة عن عضيات معقدة جداً وبالإضافة إلى إحتوائها على بروتينات من أنواع خاصة فإنها تحتوى على كميـــة مـــن الـــ DNA تعادل كميه الـــ DNA الموجودة فى خلايا بكتيريا القولون حوالي ٤٠٠ مرة وتحتوى على جزىء طويل جداً من DNA .

التباين فى الكائنات الحية :

Variation of organisms

إن صفات الأفراد داخل النوع الواحد وبين الأنواع ليســت ثابتــة (Fixed) مورفولوجيا و فسيولوجيا ولكنها تختلف من فرد إلى آخـــر حيـــث تتبـــاين هـــذه الصفات . فإن الأفراد الناتجة نتيجة للتكاثر الجنسي يختلف كل فرد فيهـــا عـــن

الأخر وتختلف عن آبائها في عدد من الصفات، مع إحتفاظها بتشابه كبير بينهـــا وتنتسب إلى نفس النوع نتيجة للعوامل الوراثية الخاصة بها . هذا الأمر نجده فـــي الفطريات الناتجة من الجراثيم الجنسية مثل الجراثيم البيضية، الجراثيم الأســـكية، والجراثيم البازيدية، النباتات الراقية المتطفلة الناتجة من بـــذور وفـــى النيمـــاتودا الناتجة من بيض مخصب بالإضافة إلى النباتات المزروعة الناتجة من البذور . أما الأفراد التى تنتج نتيجة التكاثر اللاجنسى فإن التباين بين النسل يكـــون مـــنخفض جداً، بالرغم من ذلك فإن بعض الأفراد من بين النسل سوف تظهر صفات مختلفة. هذه الحالة في التكاثر اللاجنسى المنتشر جدا بين الفطريات بواســـطة، الجـــراثيم الكونيديـــة، والجـــراثيم الهدبيـــة، الأجســـام الحجريـــة Sclerotia،جـــراثيم يوريدية ...الخ .وفى البكتريا والميكوبلازما والفيروسات، بالإضافة إلـــى طـــرق التكاثر اللاجنسى للنباتات بواسطة البراعم، العقل، والدرنات .....الخ سوف يظهر النسل نسبة ضئيلة قد ترجع إلى حدوث الطفرات .

آلية التباين :

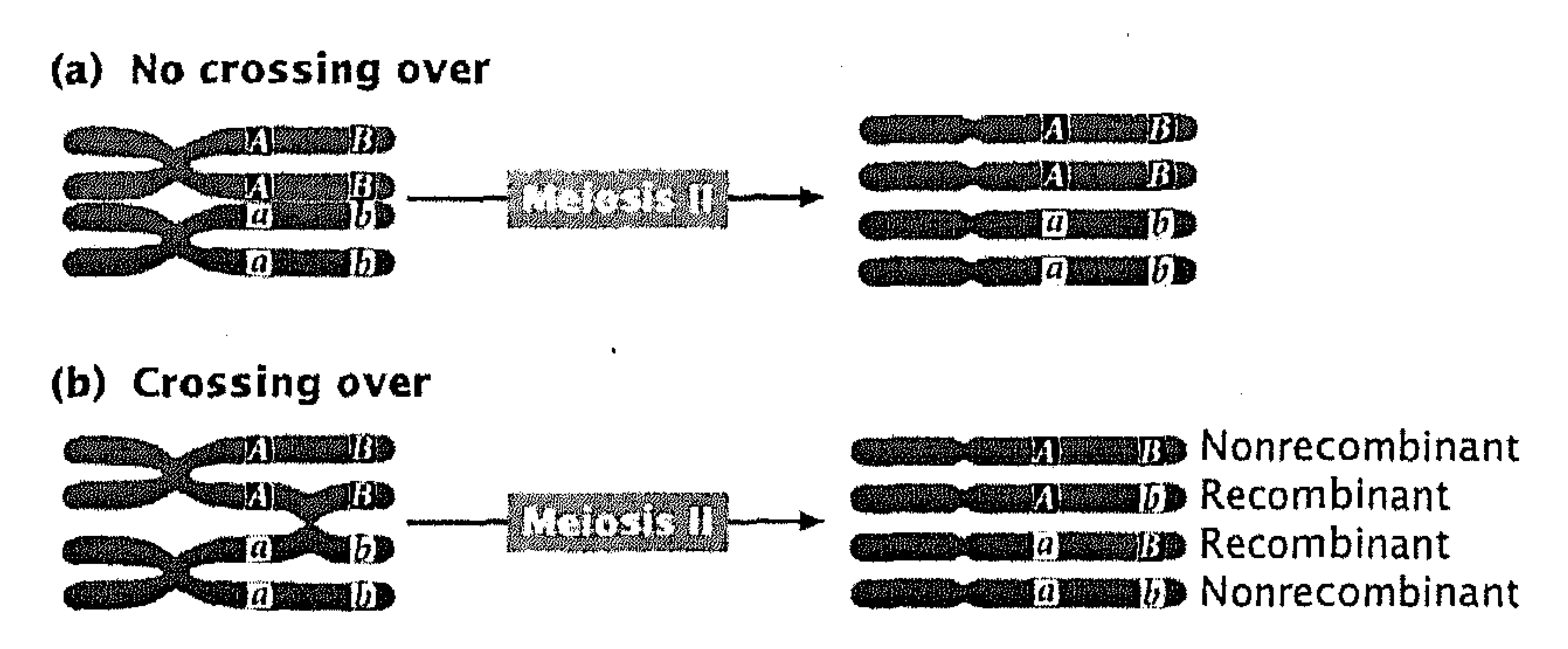
Mechanism of variation

يحدث التباين بعدة طرق فى كل من نباتات العائل والكائن الممرض كما هـــو في معظم الفطريات ، النباتات الراقية المتطفلة و النيماتودا التي يمكنها أن تتكاثر جنسيا. لذلك فالتباين الذى يحدث خلال الإنقسام الإختزالي في الزيجوت ويظهـــر فى النسل يكون أساسا عن طريق الإنعزال و الإرتباط بين الجينات. ففى البكتيريا وحتى الفيروسات تظهر الإختلافات كنتيجة لطريقة شبه جنسية، أما فى كثير مـــن الفطريات فإن بعض الطرق الشبيهة بالتزاوج Para-sexual تؤدي إلـــى التنـــوع . ومن ناحية أُخرى فإن كل النباتـــات و الكائنـــات الممرضـــة خاصـــة البكتيريـــا، الفيروسات والفطريات ومن المحتمل أن الميكوبلازما تستطيع أن تنتج تنوعات في غياب أي طريقة جنسية و ذلك بواسطة الطفرات. وفي وجود الطـــرق الجنســـيه يحدث التباين عن طريق :

١- الإتحادات الجديدة Recombinations بكل صورها العامة والخاصة .

٢- العبور الوراثى Crossing -over (شكل رقم ٧) .

Incomplete linkage



-Crossing over occurs between non-sister chromatids in meiosis
-A single crossover will yield 2 recombinant and 2 nonrecombinant chromatids
-One crossover will yield 2 recombinant and 2 nonrecombinant gametes

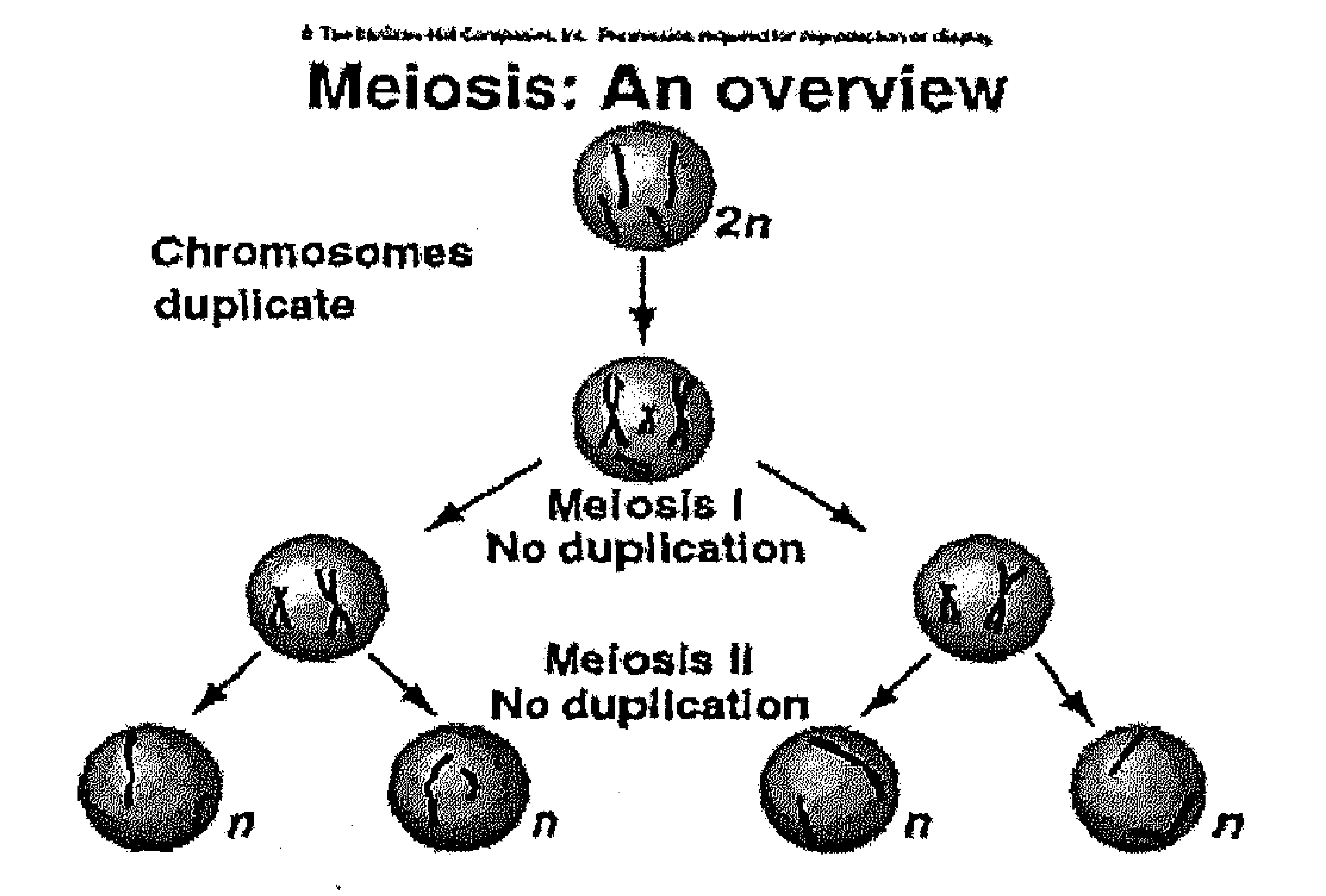
شكل رقم ٧ : العبور الوراثي يحدث بين الكروماتيدات غير الشقيقة فى الإنقسام الميوزي فتكون النتيجة نصف الجاميطات بها عبور والنصف ليس به عبور (جاميطات أبوية)

٣- التحول الوراثى والتزاوج فـى الكائنـات الأوليـة Transformation and Conjugation .

٤- الطفرات الطبيعية وهى تأتى فى المرتبة الثانية من حيـث كونهـا مصـدر الإختلاف بين الأفراد وإن كان معدل حدوثها أقل بكثير من معـدل حـدوث الإتحادات الوراثية والتى هى المصدر الرئيسى للإختلافات الوراثية .

٥- التنقل الوراثى Transposition وهو نوع من التبادل الجينى غيـر المتماثـل حيث يحدث بين مواقع غير متماثلـة يـأتى فـى أعقـاب حـدوث كسـور كروموسومية مفردة صغيرة أو تضاعف ال DNA .

٦- التوزيع العشوائى للكروموسومات المتماثلة أثناء الإنقسام الخلوى(شكل رقم ٨)



شكل رقم ٨ . إختزال العدد الكروموسومي

إلى النصف من خلال مراحل الإنقسام الميوزي

وسوف نتناول علاقة النقاط السابقة بالنشوء الوراثى للسلالات المسببه للمرض فى النبات على النحو التالى :

تعرف المجموعة النقية المتجانسة من النوع الواحد من الكائن الحى الدقيق بإسم سلالة Race، والسلالات الفسيولوجية Physiological races هى المجاميع التى تنتمى إلى نفس النوع وتتميز بتشابهها موفولوجيا وإختلافها فسيولوجياً عن بعضها وتتباين فى قدرتها على إحداث الإصابة مع أفراد النوع الواحد مظهرياً ، وتنشأ السلالات الفسيولوجية الجديدة بواسطة طرق عامة ووسائل متخصصة .

أ- الطرق العامة :

١- الطفرات :

Mutations

سوف تشرح بالتفصيل فيما بعد .

والطفرة هى تغيير مفاجىء فى المادة الوراثية للكائن الحى بشرط أن يـورث هذا التغير إلى النسل(ولا يكون هذا التغير تغيرا فسيولوجيا) ، وتحدث الطفـرات إما ذاتياً فى الطبيعة أو يمكن إحداثها بواسطة أنواع الإشعاعات المختلفة أو ببعض المركبات الكيماوية مثل حمض النيتروز، والطفرات نحو الشدة المرضـية ليسـت أكثر إحتمالاً فى الحدوث من الطفرات التى تحدث فى أى صفة وراثية أخرى ولكن نظراً للنسل الكثير الذى ينتجه الكائن المرضى فإن إحتمالات حدوث الطفرات فـى هذا النسل المتعدد إحتمالات عالية، وبالتالى فمن المحتمل أن عـدداً كبيـراً مـن الطفرات المختلفة فى شدتها عن أبويها تظهر فى الطبيعة كل سنة .

٢- التكاثر الجنسى والإنعزالات الوراثية :

Sexual reproduction and genetic segregation

يعمل التكاثر الجنسى على ظهور إنعزالات جديدة للجينات عند حدوث الإنقسام الميوزى من خلال التوزيع الإعتباطى للكروموسومات والعبور الوراثى، ويتكـون نتيجة لذلك إتحادات وراثية جديدة Recombination وهذه بالطبع تؤدى إلى نشوء سلالات جديدة .

ب- الوسائل المتخصصة: الطرق الشبيهة بالتكاثر الجنسي في الفطريات :

وهى تختلف تبعاً لنوع الكائن الممرض ، ففى الفطريات يتم نشوء سـلالات جديدة بوسائل شبيهه للتكاثر الجنسـى مثـل Para sexualism, Heterokaryosis, Heteroploidy وفى البكتريا يتم ذلك عن طريق Transduction, Transformation, Conjugation وفى الفيروسات فإن الطفرات هى الوسيلة الوحيدة لظهور التباينات الوراثية .

١-هيتروكاريوسز :

Heterokaryosis

هي الحالة التي يكون فيها خلايا هيفا الفطر أو جزء من الهيفا تحتوي علي نواتين أو أكثر مختلفة وراثيا وذلك كنتيجة للإخصاب أو الإلتحام Anastomosis. ففي الفطريات البازيدية، فإن طور Dikaryotic(الخلية فيها نواتان جنسيتان غير متحدتين) قد يختلف كلية عن الميسيلوم أحادي الكروموزومات وعن جراثيم الفطر .وبالتالي فإنه في الفطر المسبب لصدا الساق في القمح *Puccinia graminis tritici* فإن الجراثيم البازيديه الأحادية الكروموزومات تستطيع إصابة البارابارى وليس القمح ،والميسيليوم الأحادي الكروموزومات يستطيع أن ينمو فقط في البارباري، والميسيليوم ثنائي النواة يستطيع أن ينمو في القمح والباربارى كليهما .الهتيروكاريوسز تحدث أيضا في فطريات أخري ولكن أهميتها في نشوء المرض النباتي في الطبيعة غير معروف .

٢- التزاوج الذاتى :

Parasexualism

إن الـ Parasexualism هي الطريقة التي بواسطتها تستطيع أن تُحدث الإتحادات الوراثية في الهيتروكاريونز الفطرية Fungal Heterokaryons.وهذا يحدث بواسطة إندماج عرضي بين النواتين وتكوين نواه ثنائية المجموعة الكروموسومية .أثناء التكاثر يُحدث العبور في قليل من الإنقسامات الإختزالية ويؤدي إلي ظهور إعادة الإتحادات الوراثية عن طريق الإنعزالات العرضية للنواة الثنائية المجموعة الكروموسوموية في مكوناتها الأحادية المجموعة الكروموسومية .

٣-تباين النوايات وإختلافها :

Heteroploidy

إن الهيتروبلويد هو وجود خلايا أو أنسجة فى الكائن الحـي تكـون أنويتهـا محتوية علي عدد من الكروموسومات يختلف عن الوضع الطبيعي في كـل كـائن حي (1N,2N).إن الهيتروبلويد إما أن تكون أحاديه الكروموسـومات أو ثنائيـة أو ثلاثية أو رباعية، أو أنها تكون مختلفة الكروموسومات وهذا يعنـي أنهـا تمتلـك ١،٢،٣ أو أكثر من الكروموسومات الزائدة أو أنها تفتقـد واحـداً أو أكثـر مـن الكروموسومات من العدد الطبيعي..إن ظاهرة الهيتروبلويد لوحظت كثيـرا فـي الفطريات، ولقد تبين أنها تؤثر علي سرعة نمو حجم الجرثومـة، ومعـدل إنتـاج الجراثيم ولون الهيفا، النشاط الإنزيمي للحالة المرضية ولقد تبين أيضا أن بعـض الهيتروبلوريد مثل ثنائية المجموعة الكروموسومية من الفطر الأحادي المجموعـة الكروموسومية العادي *Verticillium alboatrum* الذي يسبب ذبول القطن يفقد قدرته علي إصابة نباتات القطن حتى عندما يؤخذ سلالة شديدة أحادية الكروموسـومات المرضية في الطبيعة بسبب الهيتروبلويد . (انظر فصل الطفرات) .

٤- ظهور قطاعات فى المستعمرات الفطرية :

Sectoring

هذه الظاهرة تعني ظهور قطاعات متميـزة موفولوجيـا فـي المسـتعمرات الفطرية، وهذا شائع الحدوث عندما تزرع معظم الفطريات علـي بيئـة غذائيـة، بالإضافة إلى الإختلافات المورفولوجية فإن القطاعات تظهر أحيانا إختلافات فـي الحالات المرضية. إن ظـاهرة حـدوث القطاعـات لا تـزال غيـر موضـحة وراثيا ،ولكنها تظهر أن نسبة كبيرة من القطاع يمكن أن تكون نتيجة الهيتروبلويد (التباين النووي) وأيضا الطفرات، الهيتروكاريوسز ومن المحتمل أيضا التـزاوج الذاتي كلها داخلة في ذلك .

ويذلك يمكن القول بأن السلالات الجديده تنشأ فى الفطريات بوسـائل شـبيهة بالتكاثر الجنسى مثل :

-Heterokaryosis - Parasexualism

-Heteropolidy - Sectoring

- حالة تعدد الأنوية المختلفة وراثيا فى الفطريات فإنه يوجد بكل فطر من ١ – ٣ حالات لأعداد الهيئات الكروموسومية حسب نوع الفطر، وهذه الحالات هى :

أ- الحالة الأحادية :

Haploid (n)

توجد الحالة الأحادية للكروموسومات فى خلايا عديد من الفطريـات ، وفـى أنواع كثيرة من الجراثيم مثل الجراثيم الكونيدية .

ب- الحالة الثنائية :

Diploid (2 n)

توجد الحالة الثنائية بعد تزاوج نواتين أحاديتين ، ويطلق على إتحاد خليتـين جنسيتين تحتوى كل منهما على نواة أو أكثر إسم Plasmogamy، كما يطلق علـى عملية إتحاد الأنوية karyogamy .

ج- حالة تعدد الأنوية :

Karyotic (n + n)

يطلق على الحالة التى توجد فيها نواتان أحاديتان غير مندمجتين فـى نفـس الخلية إسم Dikaryotic ، لأن الكروموسومات توجد فى صورة n + n ، ولو وجد أليل سائد فى إحدى النواتين ونظيره المتنحى فى النواة الأخرى فإن الأليل السـائد هو الذى يظهر تأثيره . وتقضي الفطريات المتطفلة معظم حياتهـا بـين الطـور الأحادي n ، والطور الـ(dicaryotic (n + n ، مع فترة قصيرة بينهما فى الطور

الثنائي (2n) . وعندما تتحد الخلايا الأحادية لتكوين ال dikaryon فإن الميسيليوم الجديد إما أن يطلق عليه إسم Homothallic إذا كانت الخليتان من نفس الميسيليوم ، وإما أن يسمى Heterothallic إذا كانت الخليتان من ميسيليومات مختلفة ذات أنواع تناسلية مختلفة ، وكان Blakeslee فى عام ١٩٠٤ هو أول من إكتشف ظاهرة الـHeterothallism ، ويطلق على الخلية التى تحتوى على نواتين أو أكثر مختلفين وراثيا إسم Heterokaryon ولهذه الظاهرة دور كبير فى ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة من فطريات الأصداء والتفحمات .

د- الإنعزالات الجسمية للجينات :

Somatic segregations of Genes

تتكون أنوية ثنائية (2n) أحيانا فى خلايا الفطريات المتعددة الأنوية المختلفة وراثيا Heterokaryons بإندماج نواتين معا ، ويتبع ذلك أحيانا حدوث إنعزالات فى هذه الأنوية عند إنقسامها ميتوزيا ، نتيجة لما يعرف بإسم العبور الميتوزي Mitotic crossing over ، الذي يتبعه الرجوع إلى الحالة الأحادية ، وتظهر هذه الإنعزالات الجديدة عندما تتكون الجراثيم الكونيدية ، وهى غير جنسية ، من واحدة من الخلايا المختلفة وراثيا ، وقد أطلق Pontecorvo على هذه الظاهرة إسم الدورة خارج الجسمية أو شبه الجنسية Parasexuality or parasexual cycle

٥- التغيرات الوراثية غير النووية :

Cytoplasmic genetic variations

يوجد العديد من الأمثلة على الوراثة السيتوبلازمية لصفات هامة فى الفطريات مثل معدل النمو والضراوة ، فمثلا تعود ضراوة الفطر *P. graminis f. sp. avenae* المسبب لمرض صدأ الساق فى الشوفان إلى الجين E الذى يورث سيتوبلازميا ، وكذلك ترجع ضراوة إحدى سلالات الفطر *P. graminis f. sp. tritici* على صنف

القمح Marquis إلى عامل سيتوبلازمي لا ينتقل إلا عن طريق هيفات الفطر التـــى تحتوى على السيتوبلازم .

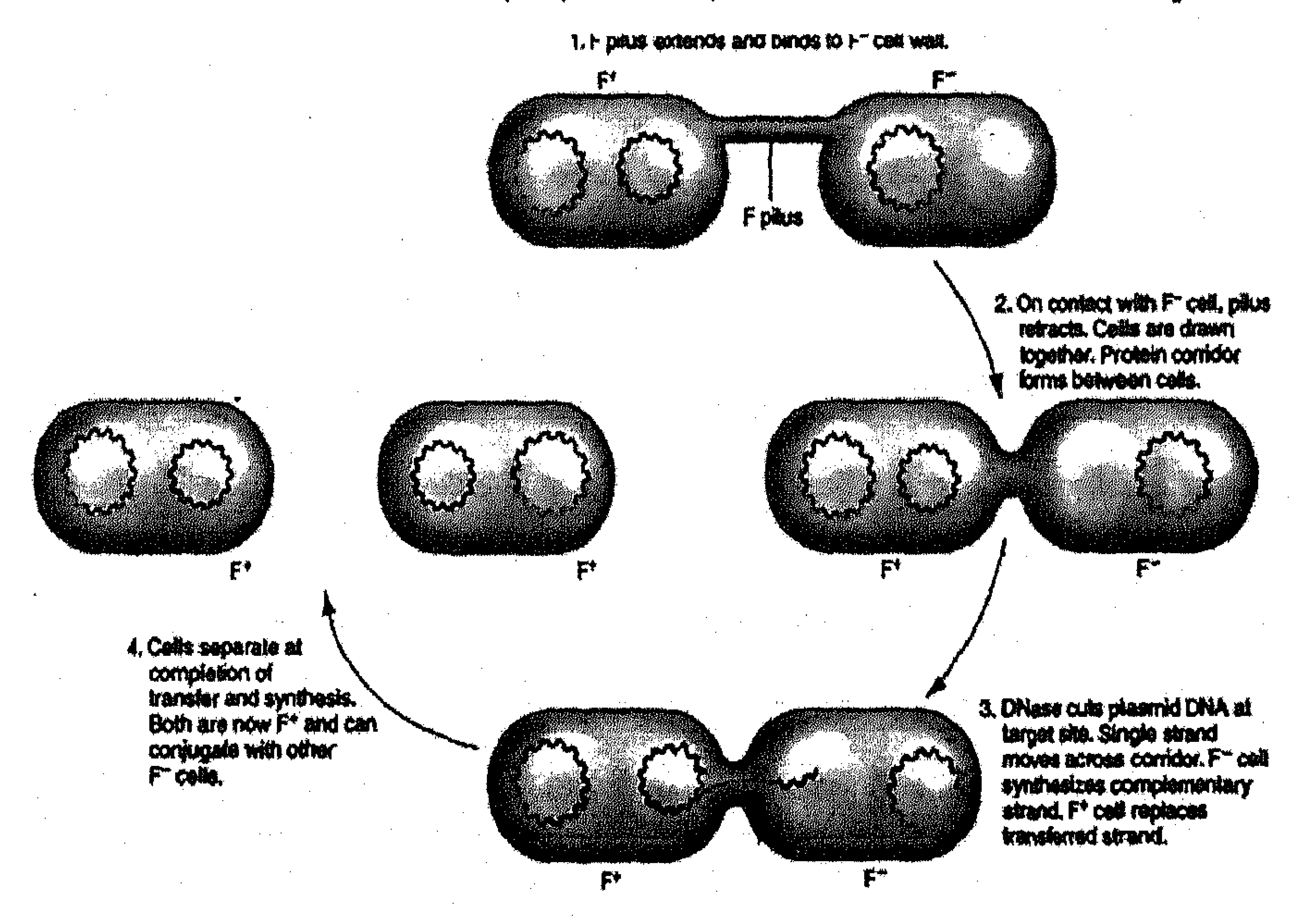
٦-العمليات الشبيهة بالتكاثر الجنسي في البكتريا :

تظهرأنواعا جديدة من البيوتايب Biotype (شبيهة بالتكاثر الجنسي) فى كـــل من البكتريا والميكوبلازما بواسطة ثلاثة طرق :

١-التزاوج :

Conjugation

هي الطريقة التي تقترب فيها بكتيريتين متوافقتين وتلامس كل منهما الأخرى وتنشأ بينهما قناة تسمى قناة التزاوج حيث ينتقل جـــزء مـــن المـــادة الـــو راثيـــة الكروموسومية أو غيرالكروموسوميه(بلازميد) من إحدى البكتريات إلـــى المـــادة الوراثية في الخلية البكتيرية الأخرى (شكل رقم ٩) .



شكل رقم ٩ : التزاوج فى البكتيريا

٢- التحول الوراثى :

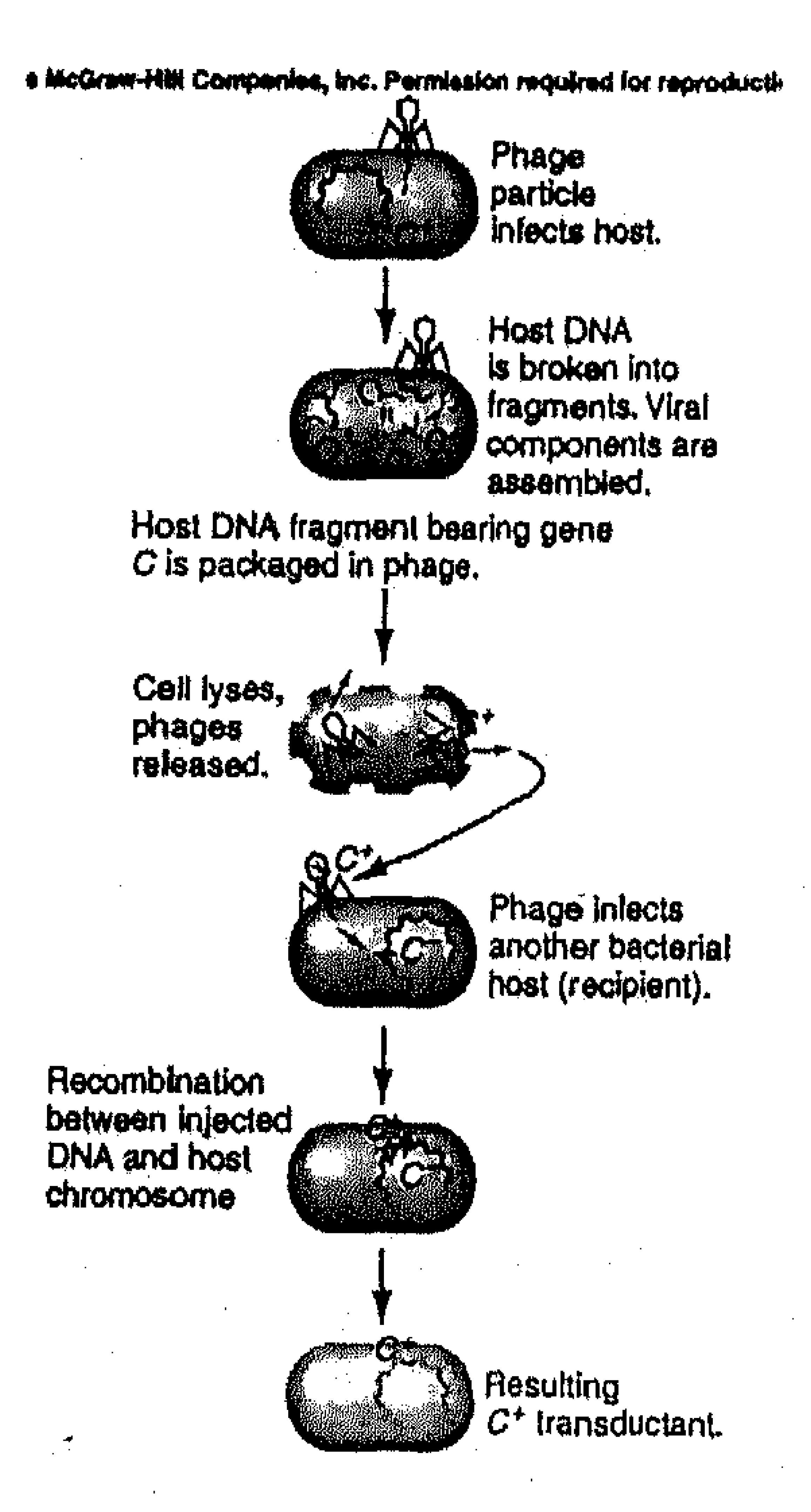
Transformation

هي الطريقة التي فيها تتحول الخلايا البكتيرية وراثيا وذلك عن طريق دمج مواد وراثية في خلاياها (جزء من كروموسوم بما عليه من جينات) متحررة أثناء إنفجار وتمزق خلية بكتيرية أُخري متوافقة معها، وبذا يحدث تبادل أو انتقال المعلومات الوراثية بين الكائنات أو من كائن إلى أخر .

٣- النقل الفاجى أو الاستقطاع :

Transduction

هي الطريقة التي فيها ينقل الفيروس البكتيري(الفاج) مواداً وراثية من خلية بكتيرية يكون فيها هذا الفاج ، إلي خلية بكتيرية تصاب بالفاج لاحقا (شكل رقم ١٠) .



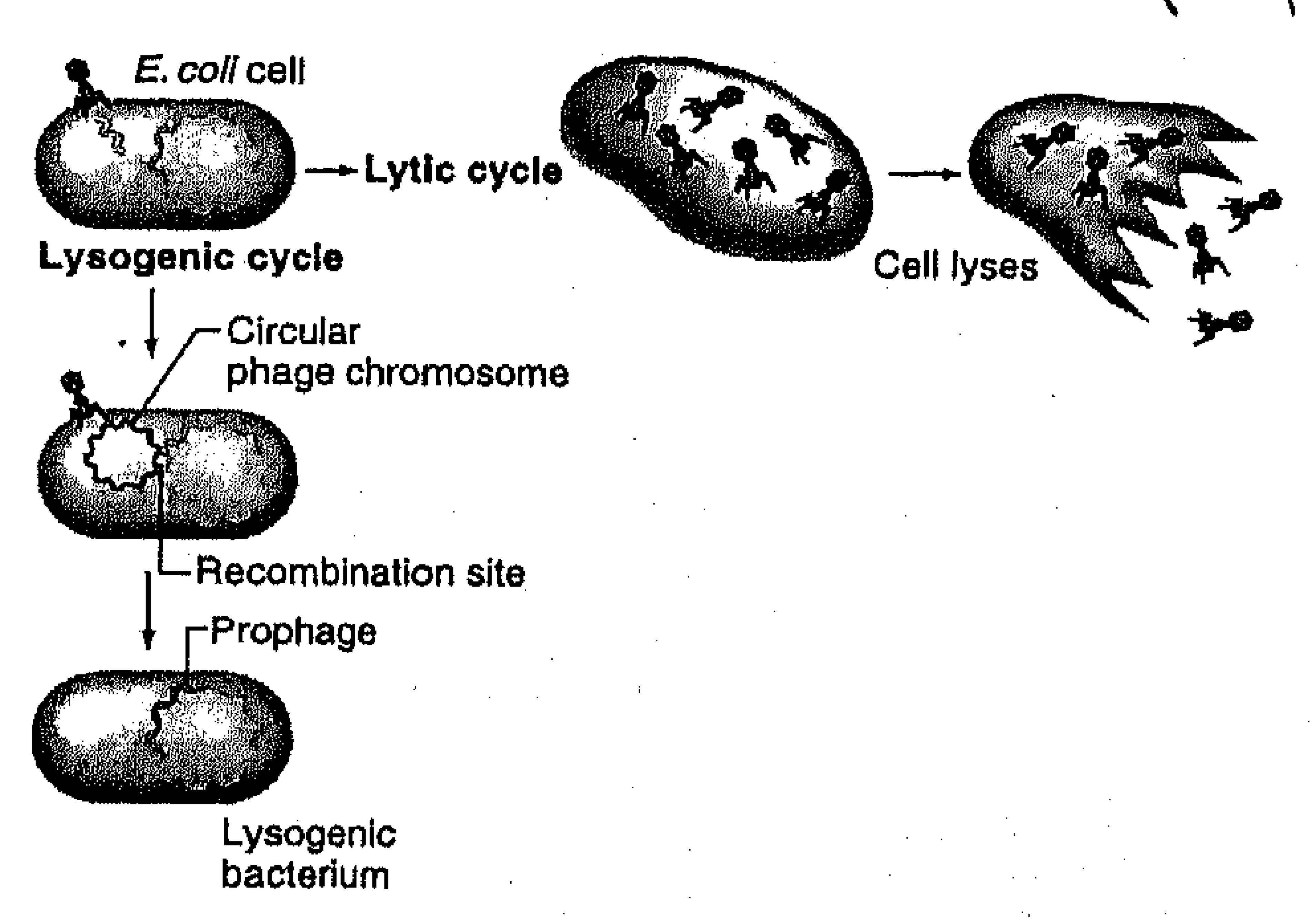
شكل رقم ١٠ : الإستقطاع الذى يقوم به الفيروس فى البكتيريا والذى ينتهى بإكتساب الخلايا البكتيرية لصفات وراثية جديدة

٧- الإتحادات الوراثية في الفيروسات :

Recombinations in Viruses

تحدث دائماً معركة تسابق بين المقاومة فى العائل والتغيير الوراثى الذى يحدث فى الطفيل ليمكنه من التغلب على المقاومة فى النبات الذى ربى لمقاومته ومن معلوماتنا أنه تَحدث تغيرات وراثيه فى تركيب الفيروسات، ففى البكتيريوفاج تحدث بالجينات الفيروسية تغيرات وراثية تمكنها من مهاجمة الخلايا البكتيرية المقاومة وذلك بحدوث الطفرات والتركيبات الوراثية الجديدة .

فمثلا عندما يُحقن سلالتي من نفس الفيروس في نفس العائل النباتي فانه يكتشف وجود واحدة أو أكثر من السلالات الجديدة للفيروس، وهي ذات صفات تختلف في شدة الإصابة وفي أعراضها المرضية ...... الخ. عن صفات السلالتين الأصليتين اللتين أُدخلتا في العائل وعلي الأرجح فان السلالات الجديدة تكونان (إتحادات) مع أن ظهورها عن طريق الطفرات بدون تهجين لا يمكن استبعاده دائما (شكل رقم ١١) .



شكل رقم ١١ : الإنتقال الجيني فى البكتيريا Gene Transfer in Bacteria

وفى الفيروسات فإن الطفرات هى الوسيله الوحيدة لظهور التباينات الوراثية الجديدة فى الفيروسات وبالنظر إلى أن الفيروسات توجد بأعداد هائلة فى النباتات ، لذا فإنه يتوقع ظهور أعداد كبيرة من الطفرات فى النبات الواحد ، مهما كانت معدلات ظهور الطفرات منخفضة ، وتتعرض الفيروسات النباتية لنقص أو لزيادة فى ضراوتها عندما يحقن بها عائل معين لعدة مرات متتالية ، لأن العائل يحفز إستمرار تكاثر سلالة معينة دون غيرها ، ومن أمثلة ذلك ما يلي :

١- إنخفاض ضراوة فيروس تجعد قمة البنجر بعد مروره عدة مرات فى Chenopodium murale .

٢- زيادة ضراوة فيروس إكس البطاطس PVX بعد مروره عدة مرات فى نباتات الطماطم .

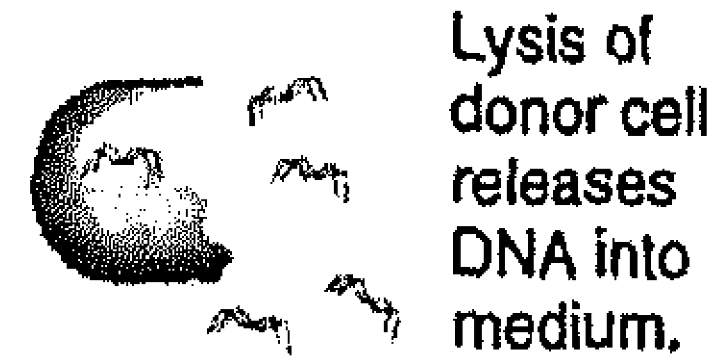
وفى مثل هذه الحالات تكون السلالات المختلفة فى شدة ضراوتها متواجدة معا منذ البداية ، ولكن العائل يشجع على تكاثر إحداها على حساب الأخرى .

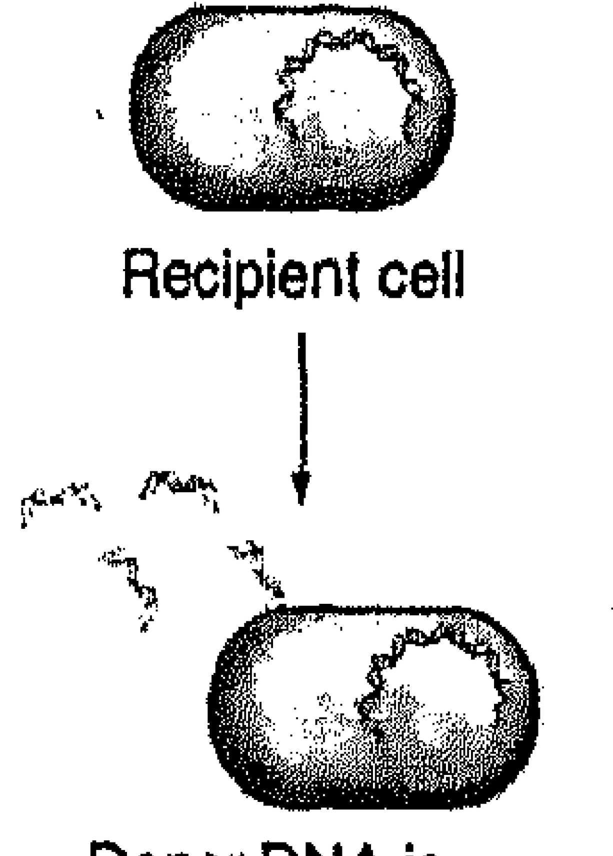
وفى البكتيريا تعتبر الطفرات أهم مصدر للإختلافات الوراثية، بما فى ذلك ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة الأكثر ضراوة ، ونظرا لأن الخلايا البكتيرية أحادية لذا فإن الطفرات المتكونة تظهر تأثيرها فى الحال ، كما تظهر التباينات الجديدة أيضا عن طريق الإنعزالات الوراثية التى تحدث بعد إندماج Conjugation خليتين بكتيريتين مختلفتين وراثيا وإنتقال المحتوى الكروموسومي أو جزء منه من إحدى الخليتين إلى الخلية الأخرى ، كذلك تستطيع البكتيريا إنتاج تراكيب وراثية جديدة من خلال ظاهرتي Transformation ، والـ Transduction والتى تتطلب وجود فيروسات بكتيرية Bacteriophage لحدوثها . وعموما فإن طرق إنتقال المادة الوراثية الثلاثة فى البكتيريا وهي :

Transduction - Transformation - Conjugation

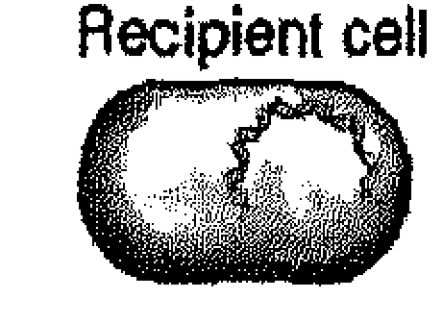
تعد وسائل شبيهة بالتكاثر الجنسى .(شكل رقم ١٢) .

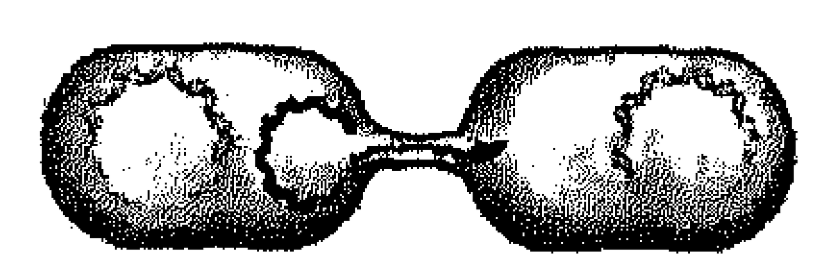
Transformation



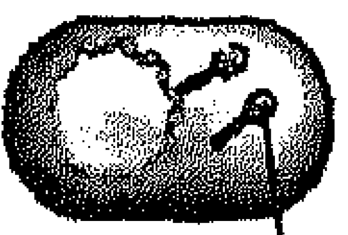


Conjugation

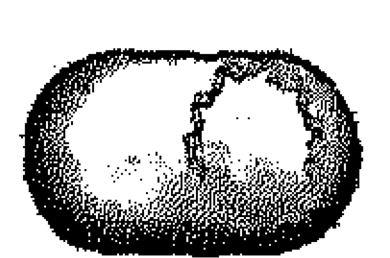


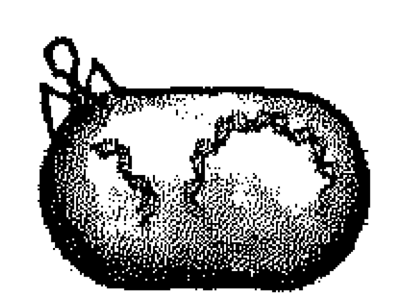


Transduction







شكل رقم ١٢ : طرق إنتقال المادة الوراثية فى البكتيريا

أطوار التباين في الكائنات الممرضة :

تتباين الكائنات الممرضة سواء كان هذا الكائن الممرض فطري أو بكتيرى أو ...الخ ، حيث يكون لها صفات مورفولوجية خاصة بشكل عام وتشكل نوع الكائن الممرض ، بعض أفرادالمسبب المرضى مثل مسبب صدأ الساق في الحبوب *Puccini graminis* مثل المسبب لصدأ الساق فيالشوفان *P.G.avenae* وفى الشعير *P.G.hordei* وفى القمح *P.G.tritici* . وهذه الأفراد تشكل مجموعات تسمي أصناف أو أشكال خاصة *Formáe Specialis* لذلك فهى متخصصة لإصابة كل من القمح والشعير والشوفان فإن بعض الأفراد من هذه الاشكال تهاجم بعض الأصناف في العائل النباتي ولكن لا تهاجم الأخري، (أى أن سلالات الكائن المسبب لصدأ الساق فى القمح مثلاً يصيب أصناف ولا يصيب الأخرى) . إن كل مجموعة من مثل هذه الأفراد تشكل سلالة .وبالتالي يتواجد

عدد كبيـــر مـــن الســـلالات فمـــثلا ســـلالة مـــن *P.graminis tritici*(ســـلالة ١،سلالة١٥،سلالة٥٩...الخ) تستعمل مفرقـــات للتميـــز بـــين بعـــض الســـلالات الفسيولوجية فقد إستعمل صنف *Lee* من القمح للتميز بين السلالة ١٥ من السلالة ١٥ب فى صدأ الساق الاسود حيث تصيب هذه السلالة الصنف *lee*.

إن الأفراد المتماثلة الناتجة عن تكاثر غير جنسي لهذا الفرد المتبـــاين variant تشكل ما يسمي (نوع حيوي) Biotype . إن كل سلالة تحتوي علي واحد أو العديد من السلالة الحيوية (سلالة١٥أ، ١٥.ب...الخ).وقد وجد أن السلالة الفســـيولوجية الجديدة تنشأ من السلالات القديمة ولكنها تختلف عنها عند إختبارها على المفرقات ومن الأمثلة، ظهور السلالة ١٥ب التى لاتختلف عن السلالة الأصلية ١٥ إلا فـــى أنها تصيب الصنف Lee بينما السلالة ١٥ يقاومها هذا الصنف. وأكتشف أن أشكال بيئة أُخرى من سلالات معينة من الصدأ تتكون نتيجة حدوث طفرة عاملية تغير من مظهر الإصابة على أحد المفرقات .هذه الأشكال مثل السلالة ١٥ب أكتشف أنهـــا تتكون من مجموعة من الأشكال المختلفة التى تختلف فى درجة الإصـــابة علـــى العوائل المفرقة وقسمت على أساس حجم البثرات إلى ١٥ب١،١٥ب٢......ألخ أى توجد إختلافات لانهائية فى هذا الصدأ .

إن حدوث تغير للكائن الممرض يؤدى إلى ظهـــور أنواعـــاً حيويـــة جديـــدة Biotype (فرد متباين ناتج عن تكاثر غير جنسى) هذا الفرد يفقـــد قدرتـــه علـــى الإصابة ويموت إذا فقد قدرته على إصابة صنف نباتى مزروع حتى ولو كان هذا الفرد المتباين معروف لدينا . ومن ناحية أخرى إذا لم يفقد هذا الفـــرد المتبـــاين قدرته على الإصابة فإن ذلك يساعده على إصابة نوع نباتى مزروع بسبب مقاومته وبذا ينمو ويتكاثر وينتج أفرادا عديدة تنتشر وتهلك الصنف المقاوم الذى إستمر فى مقاومته حتى ظهور هذا الفرد المتباين .

هذه هي الحالة التي يقال عنها أن مقاومة الصنف النباتي قد كسرت (Broken Down) مع أن التغيير كان سببها في الكائن الممرض وليس في العائل النباتي .

العلاقة بين جينات القابلية للإصابة فى العائل وجينات الشدة فى الكائن الممرض :

تختلف الكائنات الممرضه بإختلاف الأنواع النباتية حيث يكون الكائن الممرض متخصصا على عائل نباتى معين فمثلا فطر *Fusarium oxysporum f.sp. lycoparsic* الذي يسبب ذبول الطماطم يهاجم الطماطم فقط و ليس له إطلاقا أي تأثير على التفاح أو القمح أو الذرة وأي نباتات أخرى ،وكذلك فإن فطر *Venturia inaequalis* الذي يسبب مرض الجرب يؤثر علي التفاح فقط ،بينما فطر *Puccinia graminis f.sp.tritici* الذي يسبب صدأ الساق في القمح يهاجم القمح فقط .

إن سبب ظهور المرض يرجع إلى أن الكائن الممرض يمتلك جين أو أكثر للتخصص وللشدة ضد عائل (نبات) معين .هذا العائل يمتلك كذلك جينات معينة للتخصص والقابلية للإصابة للكائن الممرض .أى أن الكائن الممرض متخصص فى إصابة نوع معين من الأنواع النباتية المتقاربة وراثيا ويمتلك جين أو جينات مسئولة عن شدة هذا الكائن الممرض . أما العائل النباتى فإنه يحتوى على جينات تجعله قابل للإصابه لكائن ممرض معين تكون موجوده فى ذلك العائل النباتى أو فى قليل من الأنواع النباتية المتقاربه .ويحدد بداية ظهور المرض وتكشفه هو التفاعل بين جينات خاصة للشده فى الكائن الممرض والجينات الخاصه بالقابلية للإصابه فى العائل .

إن كل عائل يمتلك مجوعة من الجينات للقابلية للإصابة لكائن ممرض معين تكون موجوده فقط فى ذلك العائل النباتى وتلائم الكائن الممرض الخاص الذى يحتوى على جينات الشدة . ومن هذا يتضح أن أى كائن ممرض يكون شديدا على

إحدى العوائل قد لا يكون شديدا على عوائل أخرى .قليل من الكائنات الممرضـة تستطيع أن تهاجم أعداد كثيرة من العوائل وذلك بسبب إحتوائها على جينات للشدة ذات مدى واسع من التأثير .

إن أى نوع نباتي يمتلك جينات للقابلية للإصابة تسمح له أن يصاب بأي كائن ممرض من الكائنات التي تصيبه.و بالرغم من وجود هذه الجينات فى نباتات مثل الذرة ،القمح أو فول الصويا ......ألخ وإنتشار معظم كائناتهـا الممرضـة بـين النباتات لم تصاب هذه النباتات وتكون مقاومة والسبب فى ذلك يرجع إلى حصولها على جين أو أكثر للمقاومة والذي يحميها من الإصابة أو من المرض الشديد وذلك خلال عمليات التطور على مدى الزمن أو خلال برامج التربية أو عـن طريـق التكنولوجيا الحيوية فإن النبات يصبح مقاوما لجميع الأفراد من الكائن الممـرض الموجود سابقا فإذا لم يحتوي الكائن الممرض على الجين الإضافي الجديد للشـدة ليتغلب علي تأثير جين المقاومة الجديد في النبات، فإنه لا يستطيع إصابة النبـات ويبقي النبات مقاوم. وبالتالي فإن جين واحد جديد للمقاومة ضد الكائن الممـرض يستطيع حفظ النباتات التي تمتلك هذا الجين الخاص بالمقاومة من المرض المتسبب عن عدة سلالات من الكائن الممرض وبذا يصبح النبات مقاوم .

التفاعل بين شدة الإصابه فى الكائنـات الممرضه والمقاومه فـى نباتـات العائل :

إن المرض النباتى هو نتيجه تفاعل بين إثنين من الكائنات الحيه هى النبات العائل و الكائن الممرض ويتحكم فى صفات كل واحد من هذين الكائنين مادتهمـا الوراثيه DNA التى تحمل العوامل الوراثية (الجينات)،حيث يحتوى العائل علـى جينات القابلية للإصابة أو المقاومة أما الكائن الممرض فيحتوى على جينات الشدة أو عدم الشدة . إن عدد الجينات التى تحدد المقاومة أو القابلية للإصابة تختلف من نبات إلى نبات, كذلك عدد الجينات التى تحدد الشدة أو عدم الشدة تختلف من كائن

ممرض إلى آخر .بعض الأمراض خاصة تلك المتسببة عن الفطريات مثل اللفحة المتاخرة فى البطاطس، البياض الدقيقى، عفن أوراق الطماطم، تفحمات وأصداء الحبوب وأيضا فى عديد من أمراض النبات الفيروسية والبكتيرية كل هذه الأمراض وغيرها؛ فإن الخطوة الأولى فى أى تفاعل متوافق بين العائل والكائن الممرض هى تمييز العائل بواسطة الكائن الممرض و أحيانا العكس يعنى تمييز الكائن الممرض بواسطه العائل وبالتالى فإن غياب عوامل التمييز فى العائل يمكن أن تجعله مقاوم لكائن ممرض معين .

تتشكل الكائنات الممرضة من سلالات عديدة كل منها يختلف عن الأخريات فى مقدرتها على مهاجمة أصناف معينة من الأنواع النباتية وليست قادرة على إصابة أصنافا أخرى. وبالتالى عندما يحقن صنف بسلالتين مناسبتين مختارين من الكائن الممرض، فإن الصنف يكون قابلاً للإصابه بإحدى السلالات ولكن مقاوماً للأخرى. وعلى العكس عندما تحقن نفس السلالة من الكائن الممرض فى صنفين مناسبين مختارين من العائل النباتى فإن صنفا واحداً يكون قابلا للإصابة بينما الآخر يكون مقاوما لنفس الكائن الممرض، كما فى جدول (١). هذا يدل بوضوح على أنه فى الحاله الأولى فإن إحدى السلالات تمتلك صفات وراثية تمكنها من مهاجمة العائل بينما الأخرى لا تمتلك ذلك، وفى الحاله الثانية فإن إحدى الأصناف يمتلك صفات وراثية تمكنه ليدافع عن نفسه ضد الكائن الممرض وبالتالى يبقى مقاوماً ، بينما الصنف الثانى لايفعل مثل ذلك،أما عند حقن عدة أصناف على إنفراد بسلالة واحدة من سلالات الكائن الممرض العديده يتضح أن سلالة واحدة من الكائن الممرض تستطيع إصابه مجموعة معينه من الأصناف، وسلاله أخرى تستطيع إصابه مجموعة أخرى من الأصناف تشمل بعض الذى يمكن أن يصاب وبعض الذى لايمكن أن يصاب بواسطه السلالة السابقة وهكذا. وبالتالى فإن الأصناف التى تمتلك جينات معينه للمقاومة أو القابلية للإصابه مختلفة التفاعل ضد سلالات الكائن الممرض المختلفة وجيناتها الشديدة الإصابة أو الغير شديدة . إن

النسل فى هذه الأصناف يتفاعل مع نفس الكائنات الممرضة تماما بـنفس سـلوك الآباء، هذا يوضح أن صفة المقاومة أو القابلية للإصابة ضد الكائن الممرض صفة تورث من الآباء إلى النسل . وبالمثل فإن نسل كل كائن ممرض يسبب على كـل صنف نباتى نفس التأثير الذى سببته الكائنات الممرضه للآباء، هذا يدل علـى أن صفة الشدة أو عدم الشدة فى إصابة الكائن الممرض لصنف معين هى أيضا صفة تورث من الآباء الى النسل .

سلالات الكائن الممرض (أصناف النبات)

	1	2	3	4
A	−	+	+	+
B	+	−	−	+
C	+	−	−	+
D	+	−	+	−

سلالات الكائن الممرض (أصناف النبات)

	1	2
A	−	+
B	+	−

جدول (١) يوضح التفاعل المحتمل بين إثنين (على الشمال) وأربعه أصناف (على اليمين) من النبات مع سلالتين (على الشمال)

وأربعه (على اليمين) من الكائن الممرض

(+) = قابلية للاصابة (تفاعل متوافق أو إصابة). (−) = مقاومة للإصابة (تفاعل غير متوافق أو عدم إصابه) .

مما سبق يتبين أنه تحت الظروف البيئية المناسبة فإن النتيجة هى إصـابة أو عدم إصابة فى كل عائل. أن توافق الكائن الممرض مع عائله يكون محددا مسـبقا بواسطة المادة الوراثية للعائل والكائن الممرض .

الخلاصـــة :

تتسبب الأمراض النباتية عن الفطريـــات وكائنـــات أوليـــة مثـــل البكتريـــا والميكوبلازما وقد تكون نباتات راقية متطفلة أو فيروسات وفايرويدات أو نيماتودا وبروتوزوا كلها مجتمعة تسبب أمراضا مختلفة للنباتات. فعلـــم الوراثـــة الخـــاص بأمراض النبات يدرس المعلومات الوراثية فى الكائن الحى وهو النبـــات وبعـــض المسببات المرضية مثل البكتريا ، الفيروس والفطر حيث تكون هذه المعلومات فى الحمض النووى دى أوكسى ريبونيوكليك أسد DNA أو فـــى الحمـــض النـــووى ريبونيوكليك أسد RNA فى بعض الفيروسات ..فعند إصابة نبات بكائن ممرض فإن هذا الكائن يمتلك جينات للتخصص ولشدة المرض ضد العائل الذى يمتلك بـــدوره جينات معينه للتخصص وللقابلية للإصابة بكائن ممرض معين. ففى العائل والكائن الممرض كما فى غالبية الفطريات والنباتات الراقية المتطفلة والنيمـــاتودا والتـــى تتكاثر جنسى فإن النسل الناتج يكون متباينا، ويحدث ذلك نتيجة التوزيع العشوائى للكروموسومات والإتحادات الجديدة والعبور الوراثى أثناء الانقسام الميوزى وكذلك الطفرات الطبيعية أو الصناعية إلا أنه توجد طرق شبيهة بالتكاثر الجنسى تحـــدث فى الفطريات مثل هيتيروكاريوسيز، التزاوج الذاتى، تباين النوايـــات وإختلافهـــا، ظهور قطاعات فى المستعمرات الفطرية . أما فى البكتريا فيحدث التزاوج، التحول الوراثى والإستقطاع الوراثى، وفى الفيروس تكون الطفرات هي الوسيلة الوحيـــدة لنشأة سلالات جديدة . كل هذه الطرق تؤدى إلى حدوث تباين فى النسل الناتج .

أجب عن هذه الاسئلة :

١- اذكر العلاقة بين علم الوراثة وعلم أمراض النبات ؟

٢- ما هى الكائنات المحتوية على الحمض النووى الـــ DNA المسببة للمرض فى النبات ؟

٣- اذكر الكائنات المسببة للمرض المحتوية على الحمض النووى RNA ؟

٤- ما العلاقة الجينية بين العائل والكائن الممرض ؟

٥- عرف التباين وكيف يحدث فى العائل والكائن الممرض .

٦- أجب بنعم أو لا مع التعليل :

أ- تختلف الكائنات الحقيقية النواة عن غير الحقيقية النواة فى النواة المميزة .

ب- الـــ DNA هو المادة الوراثية فى جميع الكائنات .

جـــ- المادة الوراثية تتركب من أدنين ، جونين ، سيتوسين ويوراسيل دائما .

د- يتماثل تركيب ال DNA فى جميع الكائنات .

هـــ- الـــ RNA هو المادة الوراثية فى فيروس موزايك القرنبيط .

و- الاتحادات الجديدة هى ناتج حدوث العبور .

ل - المرض النباتى هو تفاعل بين النبات والطفيل فقط .

الفصل الثاني

المادة الوراثية فى البكتيريا ودورة

حياة الفيروسات المتطفلة على البكتيريا

الأهداف : من المتوقع في نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علـم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا علي أن :

١- يتعرف على تركيب المادة الوراثية فى البكتيريا ومحتواها البلازميدي وعلاقته ببعض الصفات فى خلايا البكتيريا .

٢- يشرح دورة حياة الفيروسات النباتية ودور الفيروس فى نقل المادة الوراثية من خلية بكتيرية إلى أخرى .

٣- يحدد أهمية الـــ Ti - plasmid الموجود فى خلايا الأجروبكتيريم ودوره فى نقل الجينات للخلايا النباتية .

٤- يشرح دورة الحياة الجنسية لخلايا البكتيريا ودورها فى نشأة تراكيب وراثيـة جديدة .

٥- يفهم خطأ كيرنز (Qairns , 1963) الذى أوضح أن الكرموسـوم البكتيـري دائري باستخدام تكنيك قياس الإشعاع الذاتي Autoradiography فى تصـور حدوث تضاعف الكروموسوم البكتيري من نقطة البداية فى اتجاه واحد وإنمـا يمكن أن يحدث التضاعف فى كلا الاتجاهين من نقطة بداية واحدة .

٦- يستوعب دور Lederberg and Tatum عام ١٩٤٨ والذين يعتبرون أول من اكتشفوا Conjugation فى البكتريا وحصلوا بذلك الاكتشاف على جائزة نوبل فى عام ١٩٥٨ والذين أثبتوا أن بعض البكتيريا على الأقل تمر بعملية جنسية بالرغم من أنه لم يشاهد الاتحاد الجنسـي مباشـرة تحـت الميكروسـكوب الإلكتروني إلا حديثاً فى عـام ١٩٥٧ بواسـطة Anderson, Wollman and Jacob .

٧- يحدد دور Brenner فى عام ١٩٥٩ بأنه هو أول من تعرف علـــى تركيـــب الفاج .

٨- يستوعب الوسائل الرئيسية للسيطرة على الأمراض الفيروسية وبأعلى مستوى فى تقسيم الفيروسات حتى الآن والذى يعتمد على طبيعة المادة الوراثية .

٩- يحدد خصائص جينوم الفيروس وبإســـتراتيجية ترجمـــة الجينـــات للجينـــوم الفيروسي فى الأجناس المختلفة .

١٠- يجري التزاوج الجنسي فى البكتيريا للحصول على تراكيب وراثيـــة جديـــدة منها.

المقدمة :

تتكون المادة الوراثية فى البكتريا من كرموسوم واحد رئيسى ، وفى العديد من الحالات يوجد من واحد إلى العديد من جزيئات DNA التى تقع خارج الكرموسوم الرئيسى للخلية البكتيرية والتى تسمى بالبلازميدات ، والبلازميدات هى عبارة عن وحدات من المادة الوراثية لها القدرة على التضاعف مستقلة عـــن الكروموســـوم الرئيسى للخلية وهى فى تلك الحالة التى تقع فيها خارج الكروموســـوم الرئيســـي للخلية . تعد بعض البلازميدات Plasmids شظايا من الكرموسوم البكتيرى ويعـــد البعض الآخر تراكيب متحدة من شظايا DNA . فى عام ١٩٤٦ اكتشف كل مـــن Lederberg and Edward Tatum حدوث إتحادات وراثية فـــى البكتيريـــا genetic recombination in bacteria وبعد ذلـــك بعـــدة ســـنوات اكتشـــف Lederberg أن الفيروسات التى تصيب البكتيريا والتى يطلق عليها بالـــ bacteriophages تستطيع أن تقوم بنقل المادة الوراثية من خلية بكتيرية لأخرى ، وهذه الظاهرة هـــى التـــى يطلق عليها بالاستقطاع transduction ، وقد ولد ليـــدربرج فـــى ٢٣ مـــايو عـــام ١٩٢٥م بكولومبيا ، وأنهى دراسته الجامعية بكولومبيا عام ١٩٤٤ ، وحصل على درجة الدكتوراه الأمريكية فى الوراثة مـــن جامعـــة Yale University فـــى عـــام ١٩٤٦وقد اكتشف ليدربرج مع تلميذه Norton Zinder أن بعض الفيروســـات لهـــا القدرة على نقل جينات بكتيرية من خلية بكتيرية إلى أخرى ، هذا الاكتشاف الـــذى جعل من البكتيريا أداة مهمـــة فـــى الأبحـــاث الوراثيـــة مثـــل Drosophila and Neurospora . وفى عام ١٩٥٨ تقاسم ليدربرج جائزة نوبل Nobel Prize مع كـــل من Edward L. Tatum and George Wells Beadle نظرا لاكتشـــافهم ميكانيكيـــة

الاتحادات الوراثية فى البكتيريا the mechanisms of genetic recombination in bacteria ولاكتشافهم حدوث التزاوج الجنسي فى البكتيريا ، ويعد ليدربرج مميزا pioneer فى دراسته للفيروسات والبكتيريا فى تحديد الأسس الكيميائية والجزيئية للمادة الوراثية ، وعندما كان عمر ليدربرج ١٩ سنة دخل كلية the College of Physicians and Surgeons at Columbia University بجامعة كولومبيا ليتخرج منها ويمارس مهنة الطب ، وقد سجل فى البرنامج التدريبي للقوة البحرية الأمريكية كبرنامج طبي تمهيدي مكثف لإنجاب ضباط طبيين للقوات المسلحة الأمريكية أثناء الحرب العالمية الثانية ، وبينما كان ليدربرج طالباً جامعياً إلا أنه خصص له واجب فى مستشفى البحرية الأمريكية US Naval Hospital at St. Albans فى جزيرة Long Island ، وبعد سنتين من ممارسته مهنة الطب أخذ أجازة من جامعة كولومبيا لمتابعة بحثه كخريج جامعي فى يل بمعمل Edward L. Tatum والذى كان مميزا pioneered فى استخدام النيوروسبورا فى الدراسات الوراثية الكيموحيوية ، وبينما كان ينوي العمل فى معمل تاتم لبضعة شهور فقط إلا أنه استمر به لمدة عامين حصل خلالهما على درجة الدكتوراة عام ١٩٤٦م ، عمل ليدربرج مع تاتم واكتشفا خلال عملهم ظاهرة جديدة هى دورة الحياة الجنسية فى البكتيريا sexual reproduction in bacteria خصوصا فى بكتيريا القولون *Escherichia coli* ، وفى معمل تاتم بنيو هافن Tatum's laboratory in New Haven قابل ليدربرج Lederberg زوجة المستقبل Esther واللذين أصبحا من علماء الوراثة المشهورين وبحكم حق زوجته الشخصي حصلت على درجة الدكتوراه من جامعة University of Wisconsin ، وفى عام ١٩٤٨ تمت الموافقة على تعيين ليدربرج كأستاذ مساعد للوراثة فى جامعة University of Wisconsin وأخذ لقب أستاذ مشارك فى عام ١٩٥٠ associate professor in 1950 وعلى لقب أستاذ full professor فى عام ١٩٥٤ ، وفى عام ١٩٥٧ أنشأ قسم الوراثة الطبي he organized the Department of Medical Genetics وكان أول رئيساً له ، وبعد عامين آخرين فى عام ١٩٥٩ افترض رئيسا للقسم المشكل حديثا فى Stanford University Medical School in Palo Alto بكاليفورنيا ، وفى عام ١٩٦٢ أصبح مديرا لمعامل كنيدي الجامعية university's Kennedy Laboratories فى الطب الجزيئي Molecular Medicine ، وفى عام ١٩٧٨ عين رئيسا لجامعة Rockefeller University . كان لليدربرج اكتشافين هامين فى مجال الوراثة : الأول هو اكتشافه للجنس فى البكتيريا ولحدوث الانتقال المنتظم للمادة الوراثية فى

البكتيريا أيضا كما يحدث فى الكائنات النباتية والحيوانية الراقية(من خلال ميكانيكيات خلوية مختلفة) ، والثاني هو اكتشافة لأن تبادل المادة الوراثية genetic exchange يمكن أن يحدث أيضا بين البكتيريا من خلال وسيط وهو الفيروس والذى يمكن أن يقوم بنقل أجزاء من الجينات portions of genes من الخلية البكتيرية العائل إلى خلية أخرى ، هذان الاكتشافان كانا محوريين فى وضع وتأسيس طرق دراسة المنظمة الجزيئية للمادة الوراثية ووظيفة الجينات ، واكتشف أيضا بأن ميكانيكية البنسلينات على قتل البكتيريا ترجع إلى منع تخليق الجدار الخلوي due to its preventing synthesis of the bacteria's cell walls ، وفى عام ١٩٤٠ قبل البيولوجيون بصفة عامة أن البكتيريا تمر بدورة حياة جنسية . الصورة التالية إحداها لليدربرج وهو فى سن الشباب (شكل ١٤) ، والثانية (شكل ١٣) لليدربرج وهو يتحدث عام ١٩٩٧ فى أحد المؤتمرات ، الشكل رقم (١٥) وفيه يسلم الرئيس الأمريكي جورج دبيو بوش ليدربرج الميدالية الدولية فى العلوم .

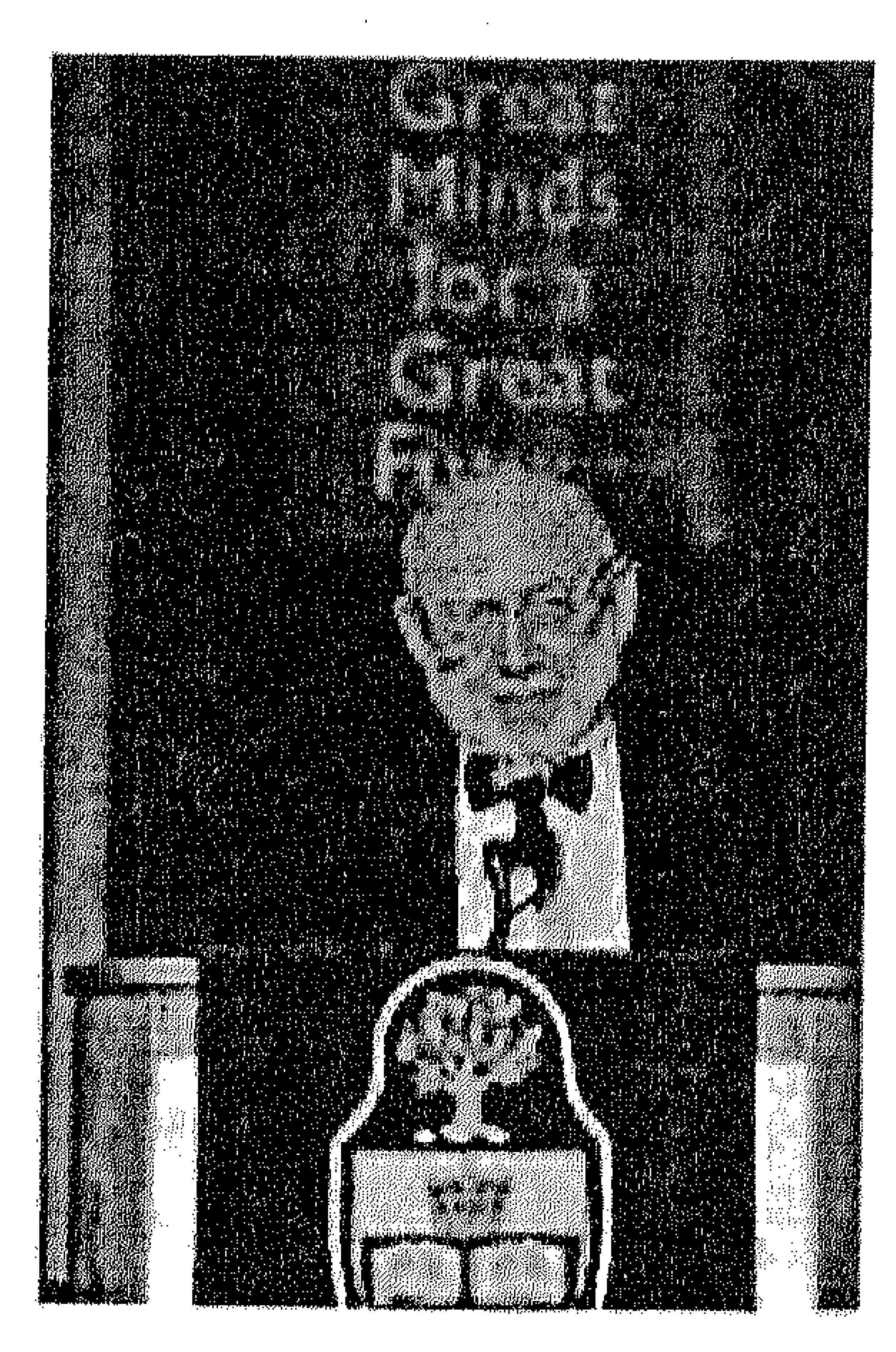


Fig. 13 . Joshua Lederberg speaking at a conference in 1997



NARA/UPI; NARA/Stanford U.

Fig. 14 . Joshua Lederberg

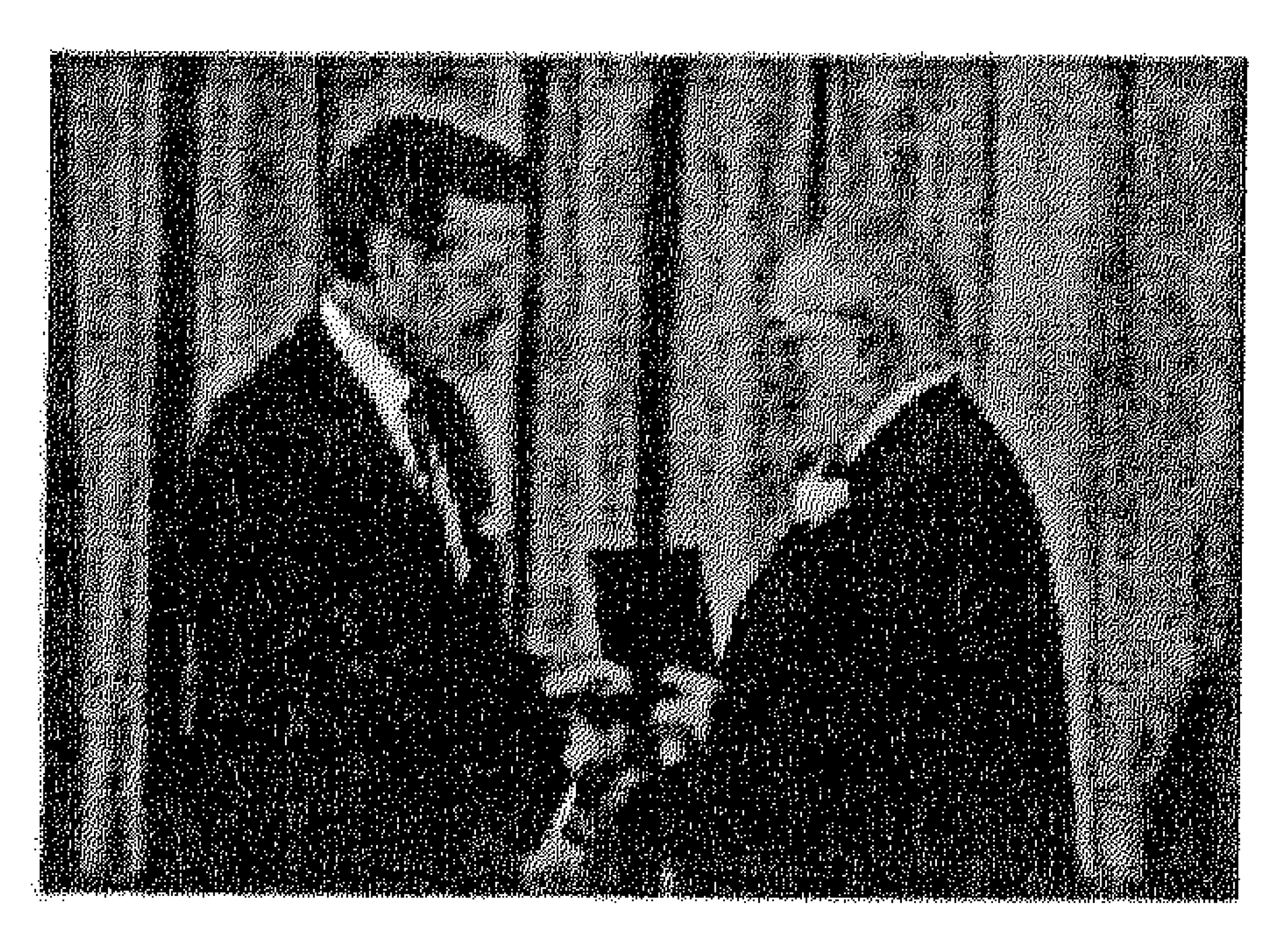


Fig. 15 . Joshua Lederberg (right) receiving The National Medal of Science from George H. W. Bush.

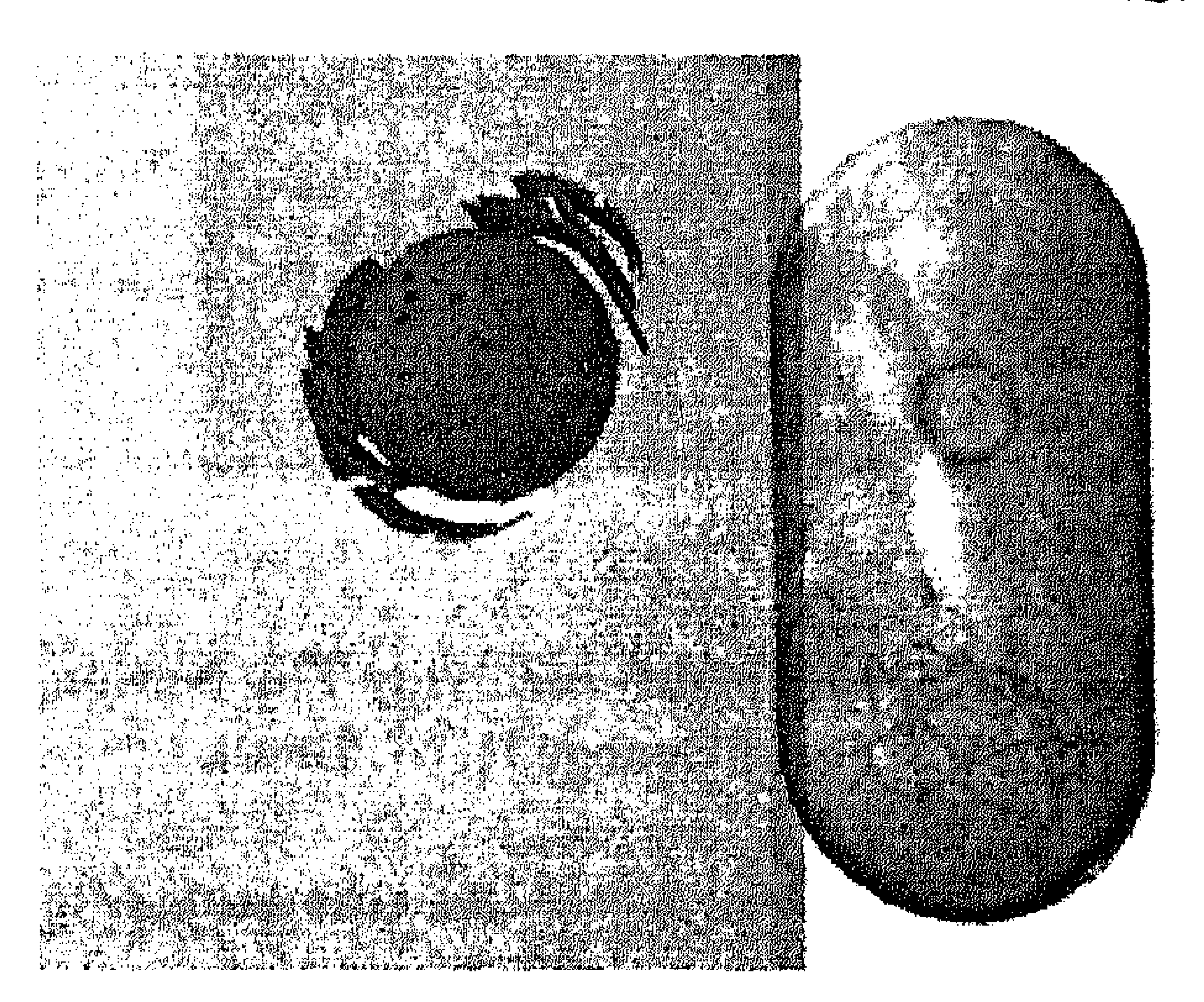
البلازميدات والإيبوسومات كعناصر وراثية :

Plasmids, episomes as genetic elements :

أغلب البلازميدات الموجودة بالخلايا البكتيرية غير ضرورية لعوائلها ، إلا أن بعضها يتحكم فى تفاعلات خاصة بالمضادات الحيوية • ولها القدرة على التكرار المستقل والاتحاد مع DNA الغريب وحمل DNA إلى مراكز التخليق الحيوى فى الخلية وتفيد فى مجال الهندسة الوراثية Genetic engineering ، حيث يوجد البلازميد Ti (محدث الورم tumor-inducing) الذى يحمل تتابع من DNA قادر على تحويل خلايا النباتات ذوات الفلقتين (كالدخان وعباد الشمس والجزر والطماطم ••• إلخ) إلى خلايا ورمية ، ويرتبط التحول الورمى بمرض التدرن التاجى .

وتسبب بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* مرض التدرن التاجي وهو مرض خطير لمحاصيل الفاكهة والمشاتل بالذات ، ويظهر المرض عند دخول البكتريا الحية من الأسطح المجروحة فى النبات وفى منطقة التاج عادة (منطقة الالتقاء بين الساق والتربة) ولكن البكتريا التى تبدأ مرض التدرن ليس من الضرورى استمرارها داخل النبات لحدوث الورم ، فمن الممكن أن تموت بعد عدة أيام ويستمر الورم فى النمو ، فى حالة إصابة النبات بالأجروبكتيريم تتحد شظية من DNA للبلازميد Ti مع مقطع من DNA الخلية النباتية المتعرضة للعدوى• تشفر الجينات الآتية من البلازميد والمندمجة فى الخلايا النباتية للإنزيمات

التى تشجع على النمو المستمر وغير المنضبط للورم الذى بدأ من التدرن الناجم عن الإصابة البكتيرية .

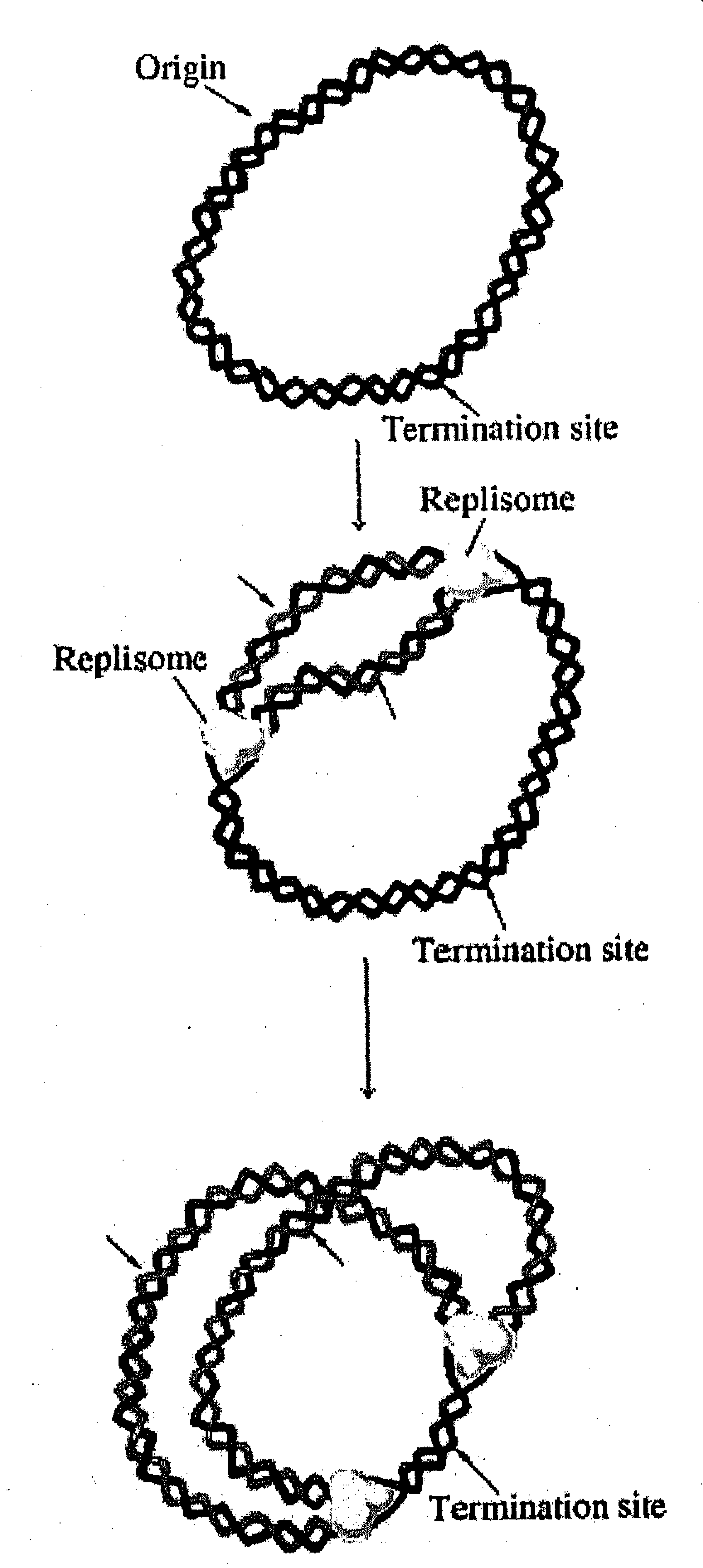


شكل رقم ١٦ . يوضح المحتوى الكروموسومي والبلازميدي فى بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجي فى النباتات ذوات الفلقتين

تندرج البكتيريا تحت مجموعة الكائنات غير مميزة النواة Procaryotes ومن أوضح المميزات فى هذه الكائنات أن المحتويات النووية غير محاطة بغشاء نووي كما فى حالة الكائنات مميزة النواة Eucaryotes ، كما أنها تفتقد بعض التراكيب الموجودة فى خلايا الكائنات مميزة النواة كالميتوكوندريا والشبكة الإندوبلازمية ومعقد جولجي والليسوزمات . أوضح التحليل الوراثي فى بكتيريا القولون أن العدد الكبير من الجينات ينتظم فى خريطة كروموسومية عبارة عن مجموعة ارتباطية واحدة مقفولة الطرفين دائرية الشكل circular . ولهذا تحتوى الخلية البكتيرية على كروموسوم واحد رئيسى بالإضافة إلى نسخ عديدة تتراوح ما بين واحد إلى العديد من جزيئات الـ DNA التى تعرف بالكروموسومات الزائدة الصغيرة Extrachromosomal DNA molecules والتى تسمى بالـ Minichromosomes أو البلازميدات (شكل رقم ١٦) . عند تضاعف الكرموسوم البكتيري فإنه ينشق إلى نصفين ينفصلان عن بعضهما ، وكل دورة تضاعف تحدث من نقطة بداية Initial point ، وقد أخطأ كيرنز (Qairns , 1963) الذى أوضح أن الكرموسوم البكتيري دائري باستخدام تكنيك قياس الإشعاع الذاتي Autoradiography فى تصور حدوث التكرار من نقطة البداية فى اتجاه واحد ، فلقد أوضحت تجارب

عديدة منذ ذلك الحين في كل من *E. coli* , *Salmonella typhimurium* , *Bacillus subtilis* أن تضاعف الكروموسوم يتم في اتجاه ثنائي ولكنه لم يستبعد بشكل قاطع احتمال حدوث التضاعف في اتجاه واحد في بعض كرموسومات العشيرة .

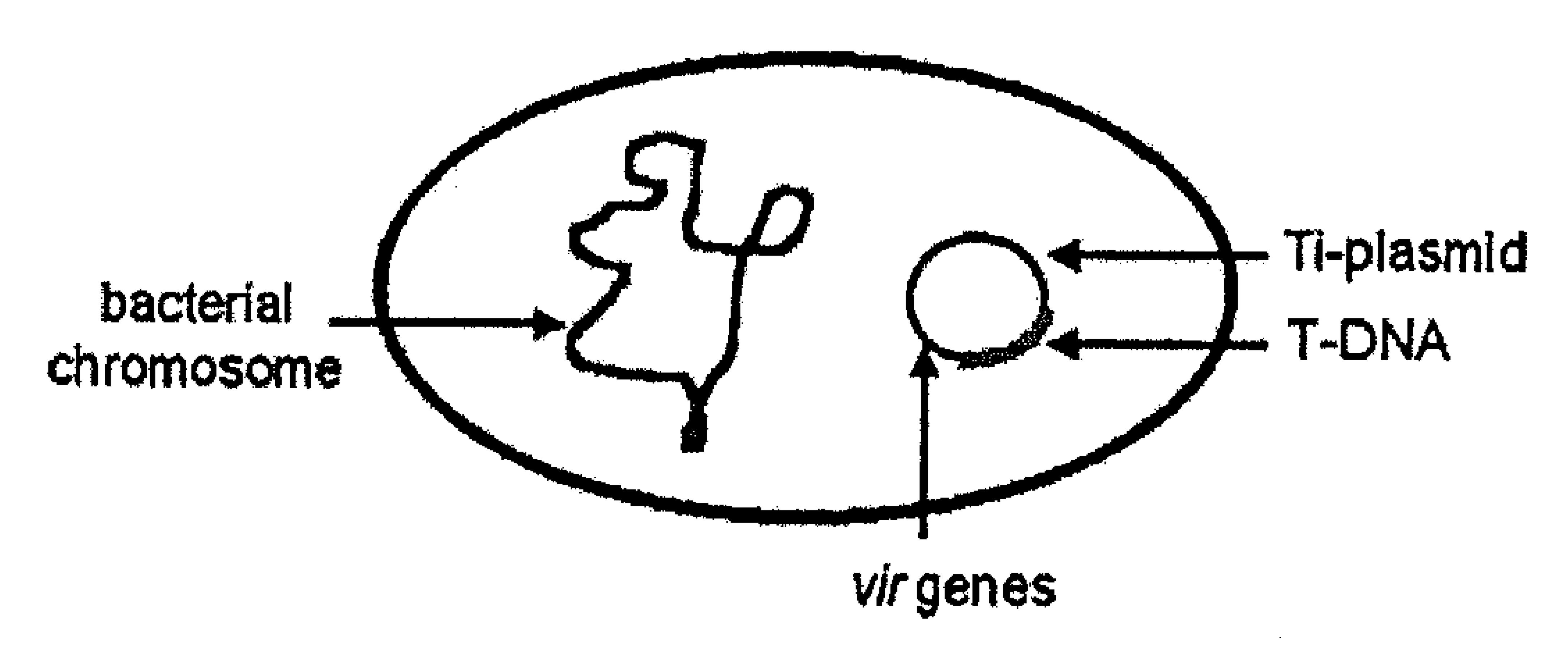
والعشيرة النامية تكون الكرموسومات كلها في حالة تكرار ، وبما أن التكرار يبدأ من نقطة ثابتة (i) فأغلب الخلايا ستكون بها الجينات المتكررة وهي القريبة من (i) بينما الجينات البعيدة عن (i) ستكون أقل تكرارا في العشيرة حيث يحدث تكرارها في نهاية الدورة (شكل رقم ١٧) . وإذا كان التكرار أحادي الاتجاه Unidirectional replication فسيتناسب تكرار الجينات مع البعد عن نقطة البداية (i) في إتجاه واحد وسيكون أقلها تكرارا الجينات المجاورة لنقطة البداية من الاتجاه الآخر . أما إذا كان التكرار ثنائي الاتجاه Bidirectional replication فتظهر درجات من تكرار الجينات على جانبي نقطة البداية (i) متساوية على مستوى الاتجاهين وتكون أقل الجينات تكرارا هي الجينات المقابلة لنقطة بداية التضاعف (i) على الكروموسوم . يبدأ التضاعف عند منطقة معينة من الكروموسوم هي منطقة البداية origin ، ومنطقة بداية التضاعف هي عبارة عن تتابع معين من النيوكليتيدات يرتبط بها عدد من البروتينات لبدء عملية التضاعف .



شكل رقم ١٧ . يوضح تضاعف الـ DNA ثنائي الاتجاه Bidirectional DNA replication مما يزيد من سرعة التضاعف

البلازميد له القدرة على التضاعف حيث أنه يعتبر وحدة وراثية مستقلة ومتميز بكيان ذاتى داخل الخلية فى قدرته على التضاعف ، ويتميز بثباته فى تلك الحالة التى يقع فيها خارج الكروموسوم البكتيري (شكل رقم ١٨) . معظم البلازميدات

وليست كلها تعد غير ضرورية للخلايا التى تحملها ؛ وذلك لأنها تلزم لحياة وبقاء الخلية بينما فى بعض الحالات تعتبر ضرورية تحت ظروف بيئية خاصة وذلك فى حالة وجود مضادات حيوية فى البيئة .



شكل رقم ١٨ يوضح المحتوى الكروموسومي ومكونات المحتوى البلازميدي فى بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجي فى النباتات ذوات الفلقتين

الإيبوسومات :

Episomes :

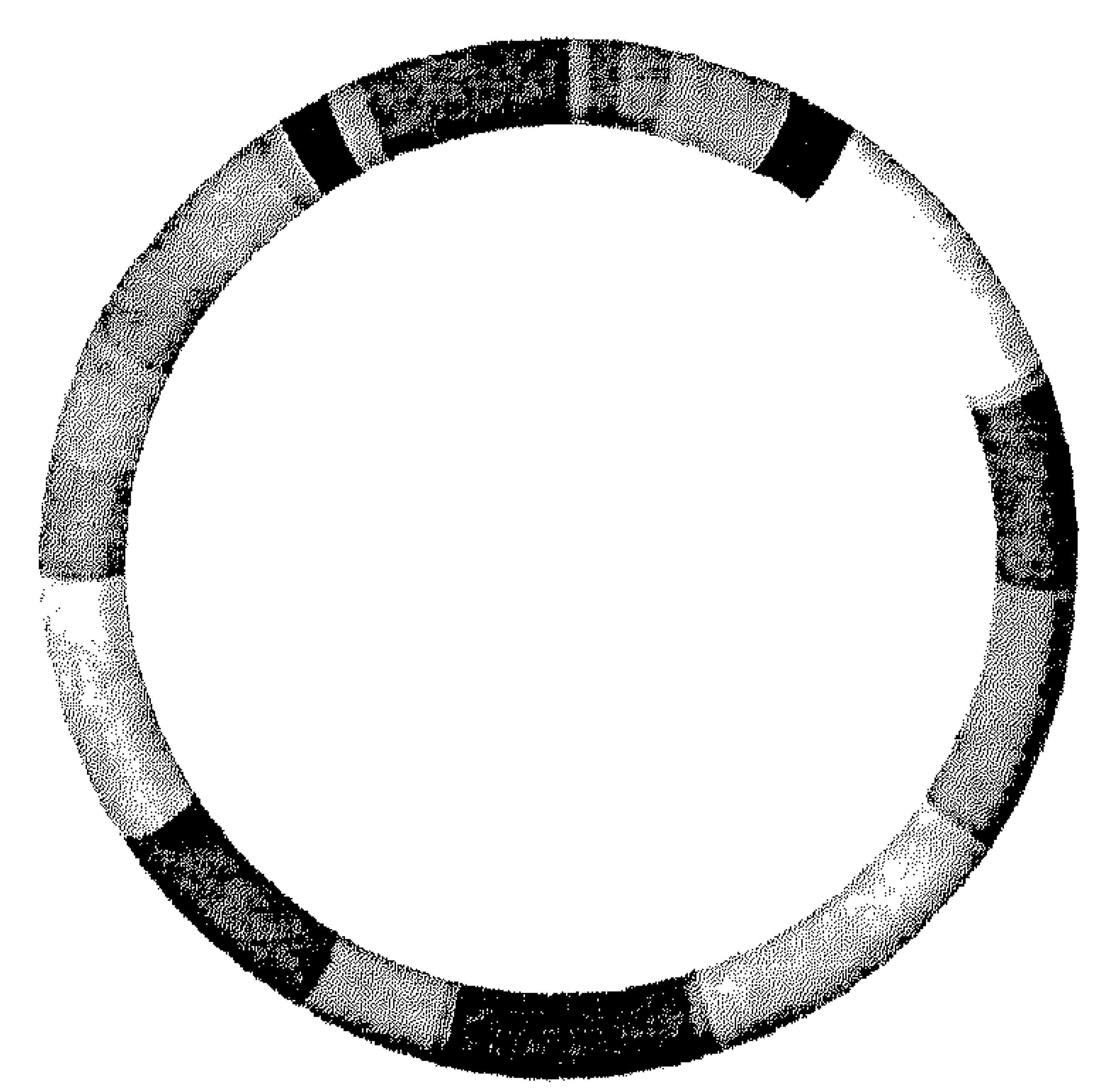
هى عبارة عن عناصر وراثية يمكن أن تتضاعف بإحدى الطريقتين التاليتين :

- كجزء يدخل فى الكروموسوم الرئيسى للخلية .
- أو كعنصر وراثى له القدرة على التضاعف الذاتى مستقلا عن الكروموسوم الرئيسى للخلية .

والكلمات Episome, plasmid ليست كلمات مترادفة لأن العديد من البلازميدات لا توجد فى حالة Integrated states وفى ذات الوقت ليست Episomes . كروموسومات العديد من الفاجات التى توجد فى الصورة المعتدلة فى الخلية Temperate phage مثل جينوم الفاج Phage genome تعتبر Episomes وليست بلازميدات .

ومن خصائص البلازميدات (شكل رقم ١٩) والإيبوسومات هو وجود تتابع قصير من DNA يسمى (Insertion sequences is elements) والعنصر Is يمكن أن يوجد فى الكروموسوم الرئيسى للعائل ، ويتراوح طول هذا التتابع القصير من DNA مابين ٨٠٠ – ١٤٠٠ زوج من النيوكليتدات ، وهو يعتبر عنصر متنقل

أو قافز بمعنى أنه يستطيع أن يتحرك من مكان لآخر علـى نفـس الكروموسـوم أو من على أحد الكروموسومات إلى كروموسوم آخر مختلف ، وفى المكان الـذى يستقر فيه العنصر Is على كروموسوم الخلية فإنه يحدث فيه عبور وراثى متبـادل بين العناصر الوراثية غير المتماثلة فى العنصر Is والكروموسوم .



Ti – plasmid

شكل رقم ١٩ . يوضح Ti – plasmid فى بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجي فى النباتات ذوات الفلقتين

يعتقد أن موقع العنصر Is فى العامل F وفى كروموسـومات السـلالات المختلفة من *E. coli* هى التى تحدد مواقع التداخل أو الحقن للعامـل F أثنـاء تكوين سـلالات Hfr ،يعتبـر العامـل F فـى خلايـا *E. coli* للسـلالة K12 وكروموسوم الفاج من أحسن الإيبوسومات المعروفة .

وتسمى الخلايا البكتيرية التى تحمل العامل F فى صورة استقلال ذاتى عـن كروموسوم الخلية بالخلايا المعطية F^+ ، وخلال عملية التـزاوج بـين الخلايـا المعطية F^+ والخلايا المستقبلة F^- ينتقل فقط العامل F وتسمى الخلايـا التـى تحمل العامل F فى صورته التى يتصل فيها بالكروموسوم البكتيـرى Integrated state بالسلالات التى تعطى تكراراً مرتفعاً جداً من العبور الوراثى (Hfr) .

وخلال عملية التزاوج بين خلايا F^-, Hfr ينتقل كروموسوم السلالة Hfr إلـى F^- بصورة خطية Linear transfer ، وقبل انفصال الخليتـين المتـزاوجتين عـن

بعضهما يكون قد انتقل جزء من كروموسوم السلالة Hfr ، وتتحدد نقطـــة بدايـــة واتجاه الانتقال بموقع واتجاه العامل F في الكروموسوم .

وقد يحدث أحيانا قطع شاذ للعامل F من كروموسوم الســلالة Hfr منتجـــاً Recombinant F factors والتي تسمى F' factors والتي بدورها تحمــل جينـــات كروموسومية ، ويسمى انتقال الجينات الكروموسومية المحمولة بواسطة F' factors خلال عملية التزاوج بين الخلية المعطية والخلية المستقبلة بالــ Sexduction .

Conjugation and recombination in *E. coli* :

استطاع Lederberg في عام ١٩٤٧ أن يقوم بعمــل أول خريطـــة وراثيـــة مبسطة لكروموسوم *E. coli* ، ولقد كان الاعتقاد السائد لفترة طويلة أن البكتريـــا تتكاثر فقط لاجنسيّاً عن طريق الانقسام المباشر A mitosis بواسطة الانقسام الثنائي البسيط الذي يعمل على تحويل خلية أمية مفردة إلى نسل من عديد من الخلايا .

وبينما كان ذلك الاعتقاد شائعاً كلية لعديد من السنوات فلقد أوضح Lederberg and Tatum عام ١٩٤٨ أن بعض البكتيريا على الأقل تمر بعملية جنسية بالرغم من أنه لم يشاهد الاتحاد الجنسي مباشرة تحت الميكروسكوب الإلكتروني إلا حديثاً فـــي عـــام ١٩٥٧ بواســـطة Anderson, Wollman and Jacob ، وبـــذلك يُعـــدُّ Lederberg and Tatum في عام ١٩٤٦ هم أول من اكتشفوا Conjugation في البكتريا وحصلوا بذلك الاكتشاف على جائزة نوبل في عام ١٩٥٨ .

ولإثبات حدوث التزاوج الجنسي في البكتيريا أجرى ليدربرج التـــزاوج بـــين السلالات الطافرة من بكتريا القولون E. coli K12 التي تحمل عوامــل وراثيـــة متفارقة . فأجرى ليدربرج التلقيح بين سلالتين إحداهما بها طفرة عـــوز غـــذائي لفيتامين البيوتين والحامض الأميني مثيونين ويمكنها تخمير سكر اللاكتوز ولكنهـــا كانت مقاومة للبكتريوفاج ، والسلالة الأخرى كانت لها القدرة على تخليق فيتـــامين البيوتين والحامض الأميني مثيونين ولكنها كانت تحمل طفرتـــي العـــوز الغـــذائي الخاصة بالحمضين الأمينيين ثريونين وليوسين ولا يمكنها تخمير سكر اللاكتـــوز وقابلة للإصابة بهجمات البكتيريوفاج ، وعلى ذلك فالتركيب الوراثي لكلا السلالتين المشتركتين في التلقيح السابق هما كالآتي على الترتيب:–

$Bio^- \ Meth^- \ Ther^+ \ Leu^+ \ Lac^+ \ vir^r$ x

$Bio^+ \ Meth^+ \ Ther^- \ Leu^- \ Lac^- \ vir^s$

أجرى ليدربرج التلقيح بين السلالتين السابقتين بوضع مخلوط من ملايين الخلايا من كلا السلالتين على بيئة غذائية Minimal medium ينقصها البيوتين والميثيونين والثيرونين والليوسين . وبالرغم من أنه لا يمكن لأى من السلالتين النمو على مثل هذه البيئة الأساسية ، إلا أنه وجد عدد قليل من الخلايا قد تمكنت من البقاء حية ونمت وكونت مستعمرات من بكتريا أولية التغذية Prototrophs لها القدرة على النمو على البيئة الأساسية Minimal medium كالبكتريا العادية، وبذلك ينتظر تكوين التركيب الوراثى Bio^+ $Meth^+$ $Ther^+$ Leu^+ .

وقد يتبادر إلى الذهن أن ظهور مثل هذا التركيب الوراثى فى نسل التلقيح السابق قد يكون مرجعه طفور الجينين Met^-, Bio^- فى السلالة الأولى فى وقت واحد إلى $Meth^+$, Bio^+ أو طفور الجينين $Ther^-$, Leu^- إلى $Ther^+$, Leu^+ فى السلالة الثانية فى وقت واحد مما يقلل من افتراض حدوث التزاوج الجنسى فى البكتريا ، وقد أدحض هذا الافتراض عندما اختبر ليدربرج البكتريا الأولية التغذية التى حصل عليها نتيجة التلقيح بين السلالتين الطافرتين السابقتين بالنسبة لصفة القدرة على تخمير سكر اللاكتوز وقابليتها للإصابة بهجمات البكتيريوفاج ، وعلى الرغم من أن نمو البكتريا على البيئة الأساسية غير مرتبط بهاتين الصفتين الأخيرتين فإنه حدث أثناء العملية التى نتجت عنها البكتيريا الأولية التغذية ، تكوين اتحادات جديدة بين الجينين الخاصين بهما وقد وجد ليدربرج النتائج التالية بين ٢٠١٣ من البكتيريا الأولية التغذية التى اختبرها.

٣٢,٥% Lac^+ vir^r تخمر اللاكتوز ومقاومة بالبكتيروفاج (أبوية) .

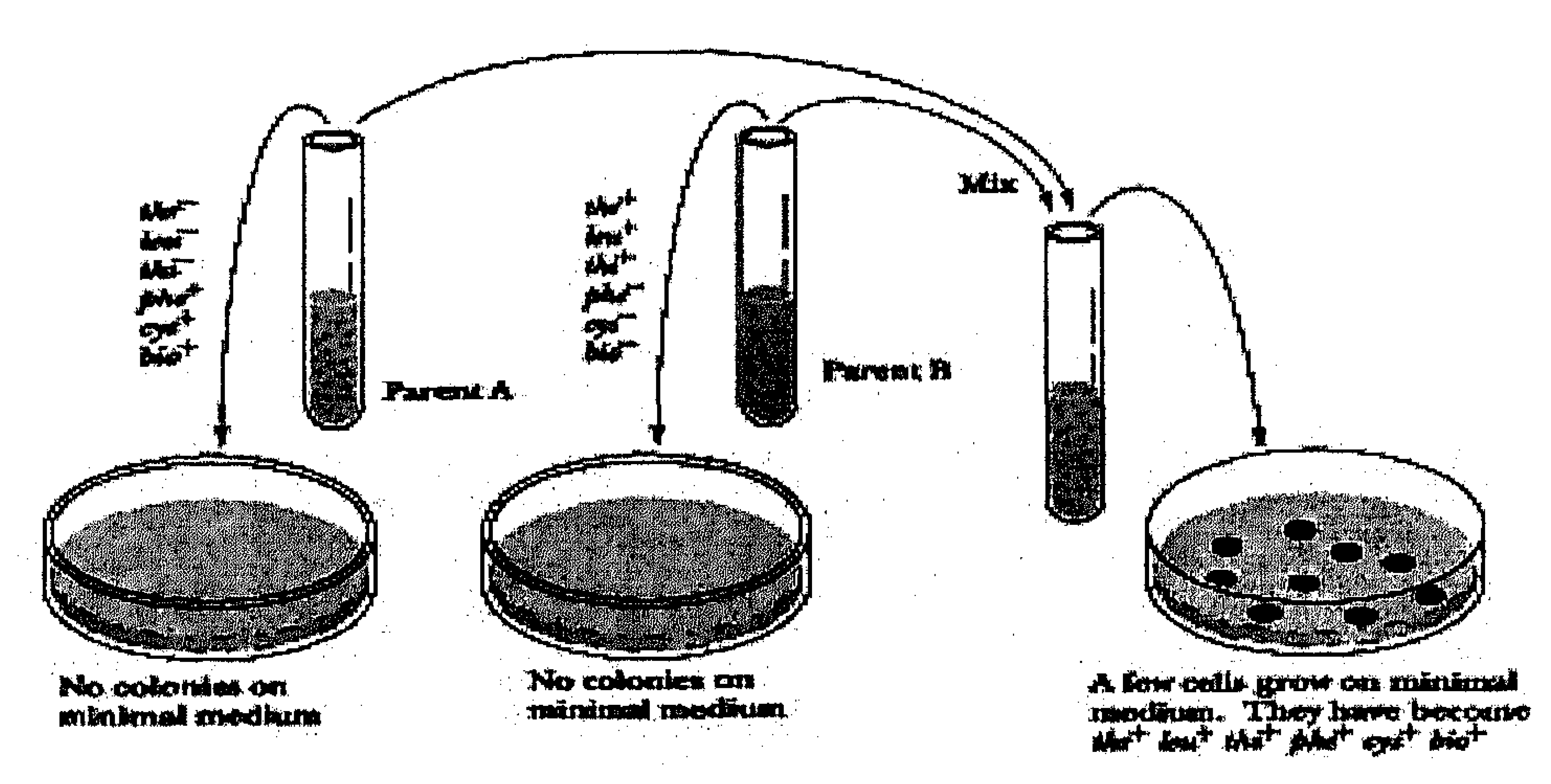
٤٢,٧% Lac^- vir^s لا تخمر اللاكتوز وقابلة للإصابة بالبكتيروفاج (أبوية) .

١,٦% Lac^+ vir^s تخمر اللاكتوز وقابلة للإصابة بالبكتيروفاج (عبورية) .

٢٣,٢% Lac^- vir^r لا تخمر اللاكتوز ومقاومة بالبكتيروفاج (عبورية) .

من هنا يمكن القول بأن المقصود باصطلاح Conjugation فى البكتيريا هو حدوث التزاوج الجنسى بين الخلايا البكتيرية وهو عبارة عن حدوث إلتصاق طبيعى Physical contact بين خليتين بكتيريتين مختلفتين وراثياً ، وكذلك تكوين وظهور أنبوبة التزاوج بينهما Conjugation tube .

ويحدث التزاوج الجنسى (شكل رقم ٢٠ ، شكل رقم ٢٢) بين خلايا مذكرة معطية Male or donor strains وخلايا مؤنثة أو مستقبلة حيث تحتـوى الخلايـا المعطية على وحدة وراثية إضافية هى F factor, (sex factor) or fertility factor ، وبذلك فإن التزاوج الجنسى فى البكتريا هو عبارة عن انتقال جـزء مـن المـادة الوراثية من خلية إلى أخرى والخلايا التى تحتوى على عامل الجنس يرمـز لهـا بالرمز F^+ والخلايا التى لا تحتوى على هذا العامل تسمى خلايا مستقبلة يرمز لها بالـ F^-.



شكل رقم ٢٠ . يوضح كيفية إجراء التزاوج الجنسي

فى البكتيريا بين سلالات تحمل عوامل وراثية متفارقة

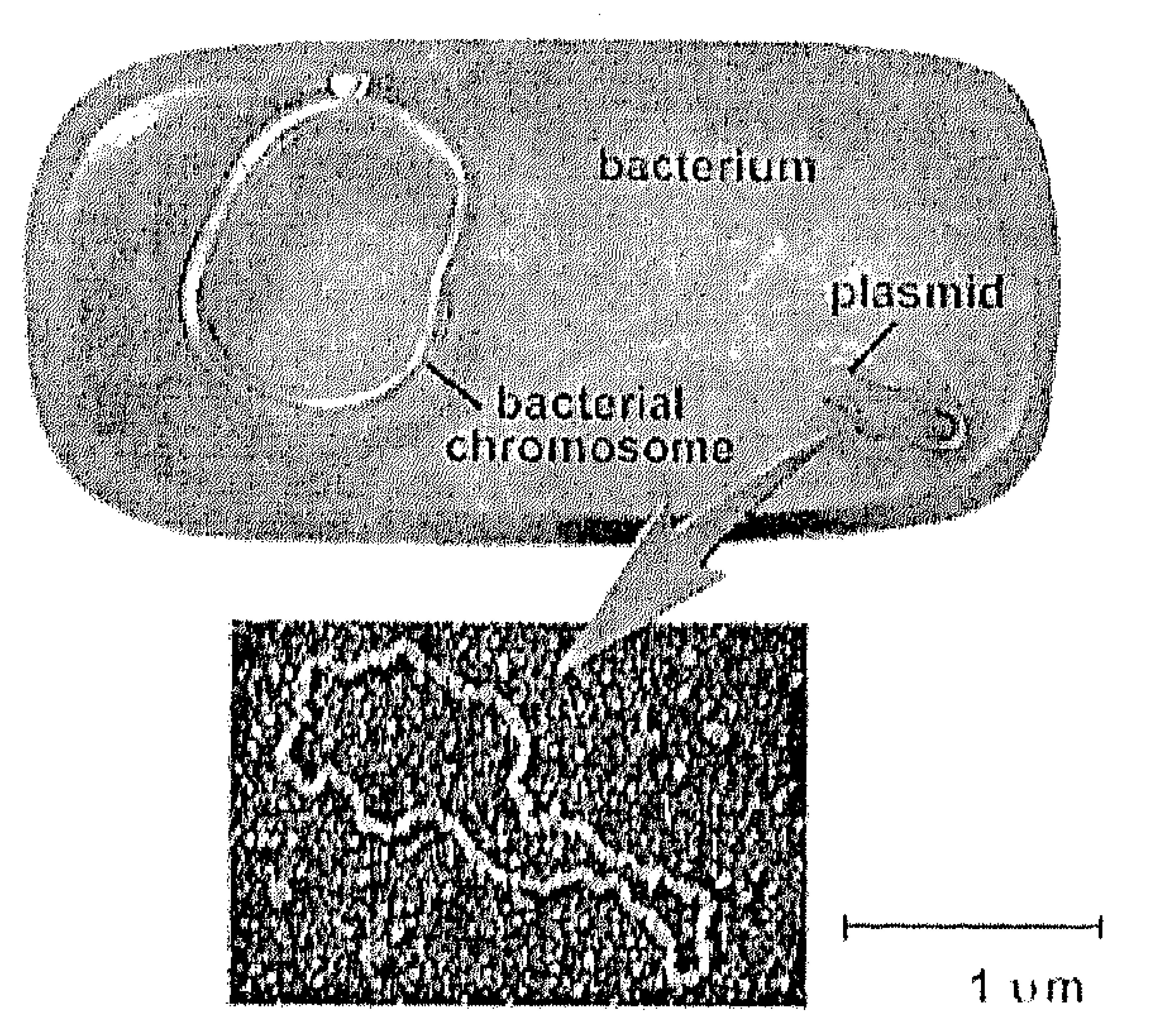
عامل الجنس The F factor فى البكتيريا :

عامل الجنس هو عبارة عن جزىء صغير من DNA طوله يوازى ٢% من طول كروموسوم *E. coli* ويمكن أن يتواجد فى حالتين :

١- الأولى منهما هى Autonomous self-replicating circular molecule وهـو بهذه الحالة يعد كروموسوماً ثانياً صغيراً موجوداً فى الخلية البكتيرية ومسـتقلاً وقائماً بذاته ويستطيع أن يتضاعف ذاتيّاً عند انقسام الخليـة ، والخليـة التـى تحتوى على هذا العامل بهذه الصورة تسمى F^+ .

٢- أما الحالة الثانية وفيها يحدث عبور فردى بين العامل الحلقى F والكروموسوم البكتيرى الحلقى فيترتب على ذلك اندماج العامل F فى الكروموسوم ، وتعرف هذه بسلالات Hfr وهى سلالات غير ثابته حيث يمكن أن تتحول إلى F^+ بواسطة Similar recombination event ويترتب على ذلك انفصال عامل الجنس عن الكروموسوم البكتيرى ، ويمكن للخلايا F^+ أن تتحول إلى F^- بفقد عامل الجنس .

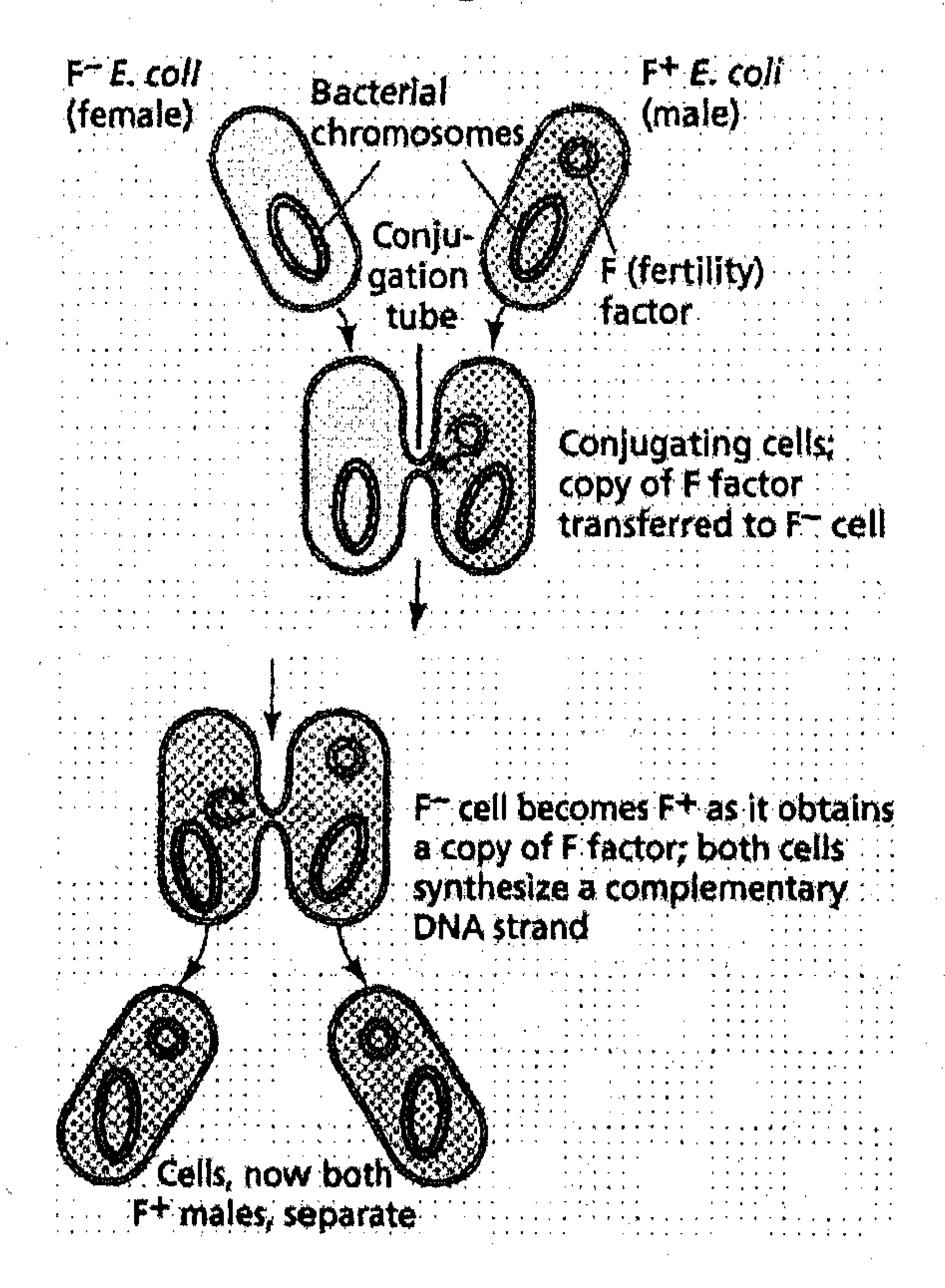
وبذلك فإن البلازميدات هى عبارة عن قطع صغيرة من DNA fragments ومعروفة بالنسبة لمعظم الخلايا البكتيرية ، والبلازميدات تحمل ما بين ٢ – ٣٠ جين ، بعض هذه الجينات لها القدرة على الحركة داخل وخارج الكروموسوم البكتيري (شكل رقم ٢١) .

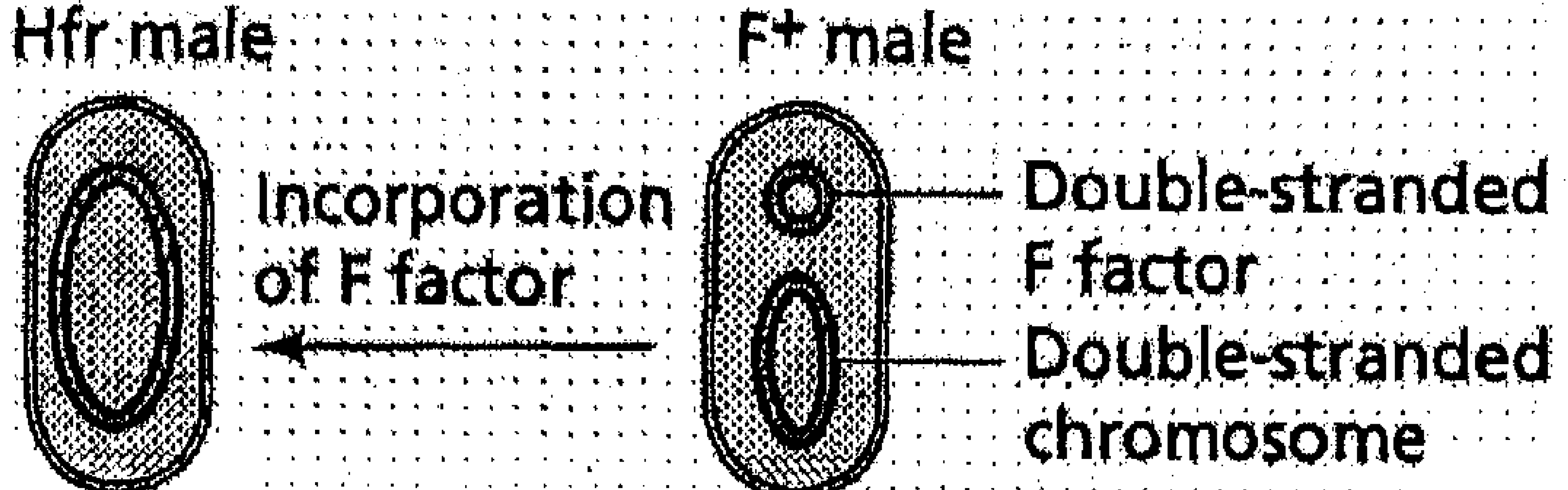


شكل رقم ٢١ . يوضح العلاقة بين البلازميد والكروموسوم فى نفس الخلية البكتيرية

الإيبيسوم هو عبارة عن بلازميد يندمج فى الكروموسوم البكتيري ، والبلازميدات لها القدرة على التضاعف بأسلوب مشابه لتضاعف الكروموسوم البكتيري ، يوجد فى خلايا بكتيريا القولون العديد من البلازميدات مثل F plasmids عامل الجنس . ("sex factors") and R plasmids (drug/antibiotic resistance).

يحتوى على ٢٥ جيناً بعضها يتحكم فى إنتاج F pili وهى عبارة عن بروتينات تمتد من سطح الخلايا المذكرة F^+ إلى سطح الخلايا المؤنثة F^-.





شكل رقم ٢٢ . يوضح تبادل المادة الوراثية فى البكتيريا عن طريق التزاوج بين خلايا بكتيرية مختلفة وراثياً

البلازميد R يحمل جينات مقاومة العقاقير فى الخلايا التى تحتويه كما يوجد حوالي ١٠ جينات مقاومة على البلازميد R الفردي ، البلازميد R يمكن أن ينتقل إلى خلايا بكتيرية أخرى من نفس النوع وإلى الفيروسات وحتى إلى خلايا بكتيرية

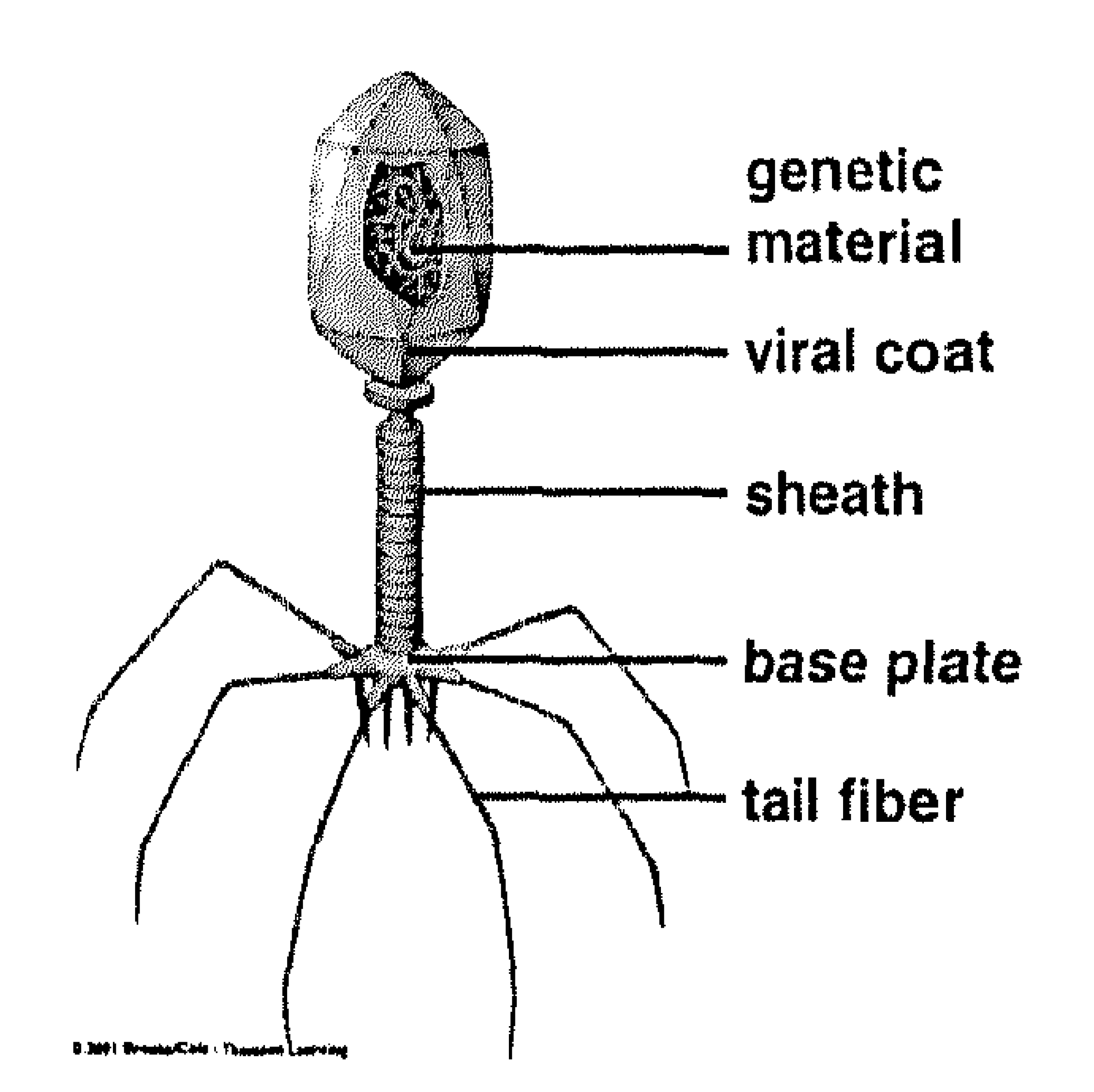
أخرى من أنواع مختلفة . وجدت المقاومة للعقاقير (المضادات الحيوية) على مستوى المسببات المرضية المسببة لأمراض حمى التيفود ، الطاعون والالتهاب السحائي والسيلان ، بالإضافة إلى الأنماط الأكثر شيوعا فى النقل فإن البلازميدات R ربما تمر خلال الغشاء الخلوي ، تبدأ جينات المقاومة للمضادات الحيوية والعقاقير المختلفة بواسطة تحطيم المضادات الحيوية أو بواسطة مراوغة قفل مكان المضاد الحيوي فى الممر الأيضي البكتيري .

دورة حياة الفيروسات البكتيرية

Bacterial viruses (Bacteriophages)

تتركب معظم الفيروسات من حامض نووي تحيط به قصرة Capsid مكونة من وحدات بروتينية عديدة ، أما الحامض النووى الذى يمثل المادة الوراثية فى الفيروسات فيكون من نوع واحد ، وقد تكون الأحماض النووية فى بعض الفيروسات من الحامض RNA وبعضها الآخر من DNA (شكل رقم ٢٣) . فالفيروسات النباتية تحتوى عادة RNA بينما تحتوى الفيروسات الحيوانية والفيروسات البكتيرية على DNA عادة كمادة للوراثة ، وإن كانت بعض الفيروسات الحيوانية مثل فيروس الإنفلونزا تحتوى على RNA ، أغلب الفيروسات التى يوجد بها مادة الوراثة RNA كفيروس تبقع أوراق الدخان وفيروس الإنفلونزا تحتوى على خيط واحد مزدوج من RNA .

ويرجع التطفل الإجباري للفيروسات Obligate parasitic إلى إنعدام نظم الطاقة وافتقارها إلى تكوين الإنزيمات المختلفة اللازمة لمختلف العمليات الحيوية التى تتم فى الخلايا ، وفى الواقع فإن الإنزيم الوحيد الذى يمتلكه الفيروس هو الإنزيم الذى يمكنه من هضم جدار خلية العائل لتتم مهاجمته والتطفل عليه . فالفيروسات لا تحتوى على نواة أو سيتوبلازم ولا تستطيع التكاثر خارج الخلايا الحية ، ومن ناحية علم الوراثة فإن الفيروسات التى تصيب البكتيريا هى التى يهمنا أمرها ، ويعرف هذا النوع من الفيروسات بالبكتريوفاج ، واختصاراً فإنها كثيراً ما تسمى بالفاج Phage ، وهذه الفيروسات تعتبر طفيليات إجبارية على البكتيريا .



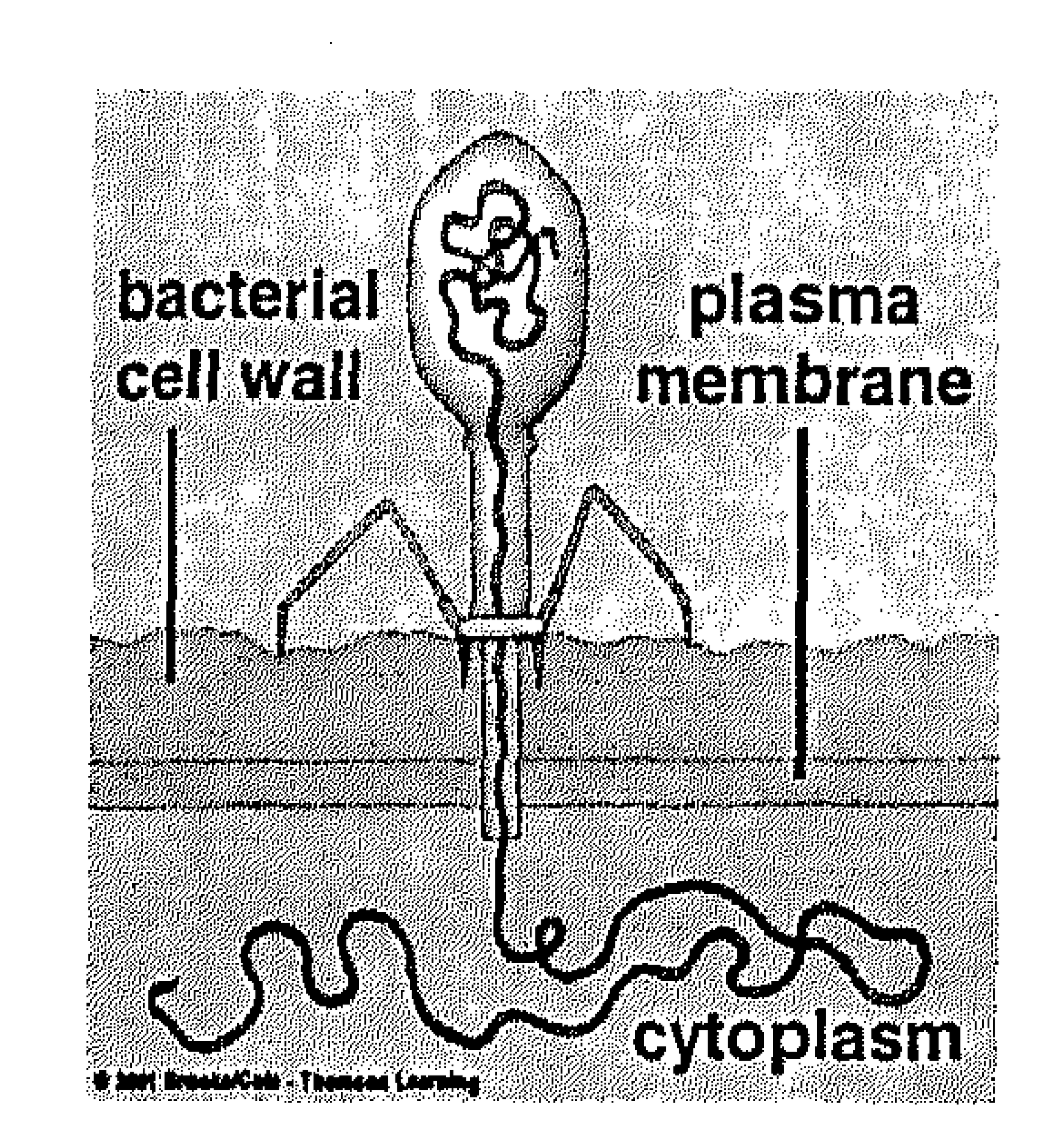
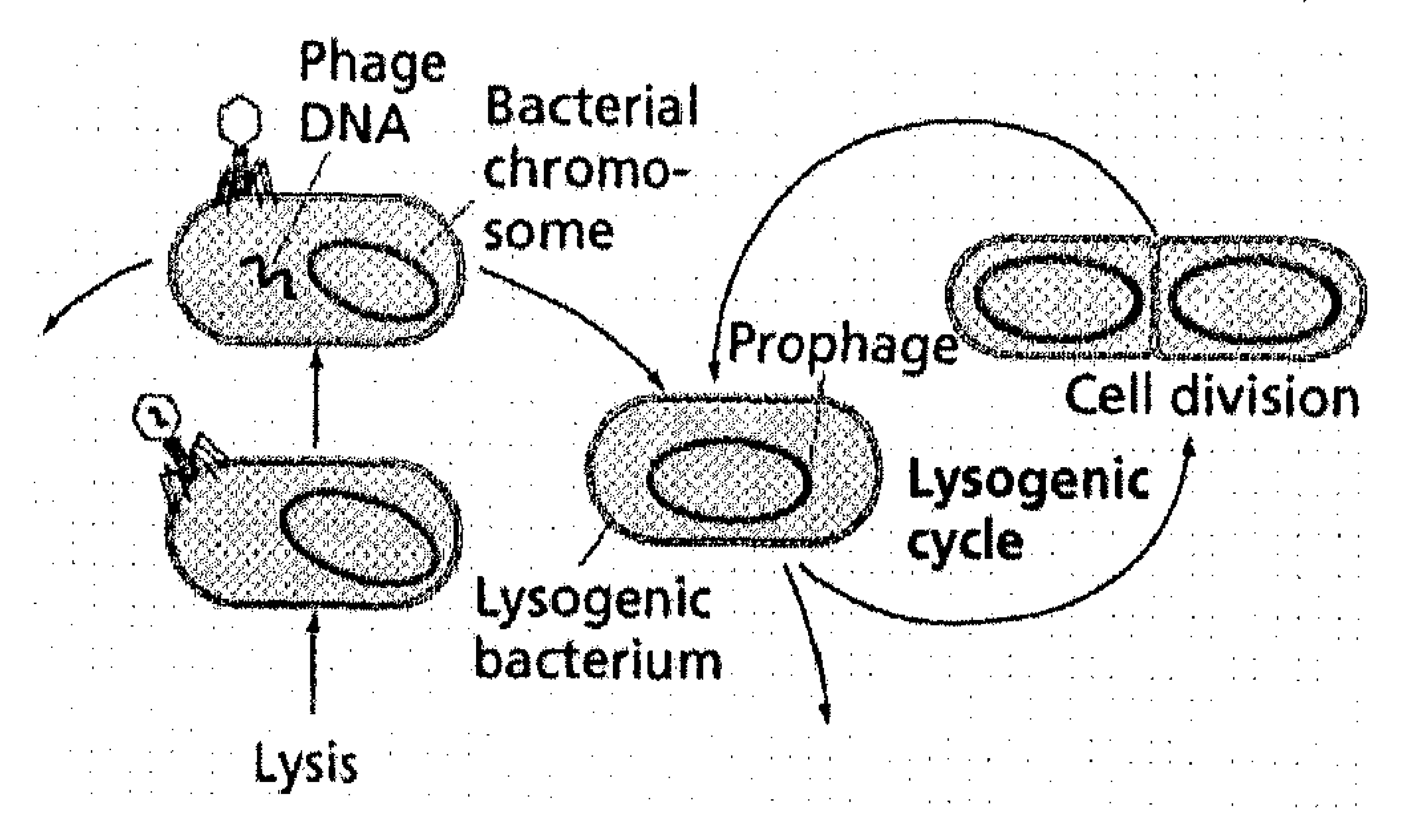
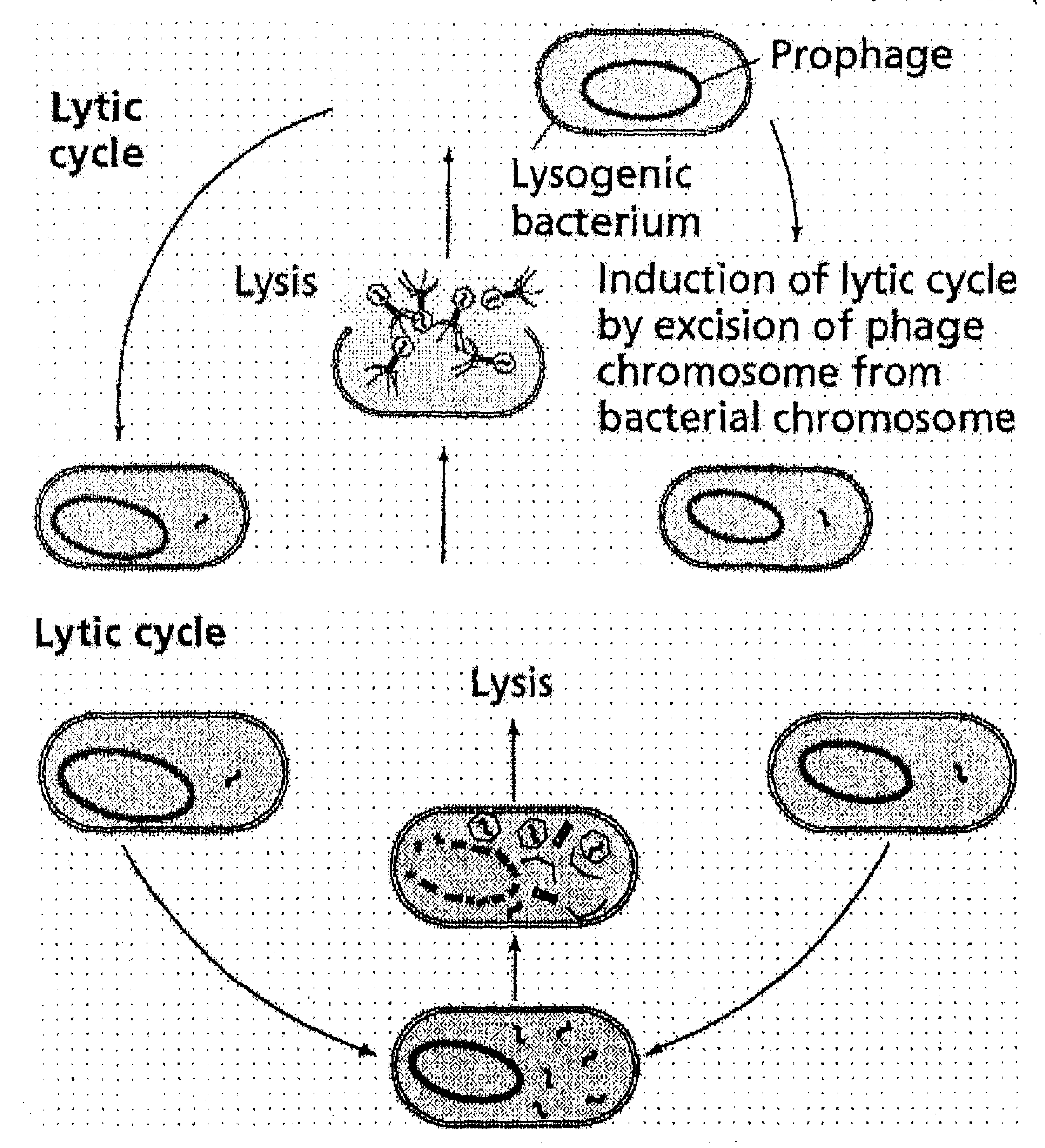


Figure 13.4a,b
Page 218-219

شكل رقم ٢٣ . يوضح تركيب الفاج

الفاجات (Virulent phages) التى تصيب خلايا *E. coli* عندما تهاجم الخلايا البكتيرية فإنها تؤدى إلى قتل الخلايا البكتيرية وتحطيم جدارها الخلوى مؤدية بذلك إلى خروج مئات من جزيئات الفاجات الجديدة التى تهاجم خلايا بكتيرية أخرى (شكل رقم ٢٤) .





شكل رقم ٢٤ . يوضح دورة التحلل والدورة الليسوجينية في حياة الفاج The lytic and lysogenic phases of a viral replication cycle

تركيب الفاج T_4 يكون معقداً ويتكون من رأس بروتينـــي يغلـــف DNA + الذيل Tail وستة أهداب Tail fibers من البروتين ، والعديد من الفاجــات لهــا تركيب مشابه ويوجد بها جزيء واحد من حلزون مزدوج من DNA هو عبــارة عن مادتها الكروموسومية الوراثية .

Brenner فى عام ١٩٥٩ هو أول من تعرف على تركيب الفاج حيث بــين أنه يتكون من : ١- جزء بروتينى يتميز إلــى الــرأس والــذيل الــذى ينتهــى بالأهداب + الحامض النووى DNA .

تبدأ دورة حياة الفيروس بأن يتصل بمواقع استقبال خاصة Special receptor فى الجدار الخلوى حيث يلتصق بسطح الخليـــة البكتيريـــة بواســـطة الأهـــداب ، والفاجات λ , T_4 دائما ما تتطفل على خلايا *E. coli* . بعد تثبيت الفاج نفسه يقوم بإفراز إنزيم خاص وهو إنزيم Lysozyme الذى يتحرر من Tail fibers والذى يعمل على إحداث ثقوب فى جدار الخلية البكتيرية من خلالها يقوم الفـــاج بحقـــن DNA داخل الخلية البكتيرية تاركاً الرأس والذيل على السطح الخارجى للخلية ، ومن اللحظة التى يدخل فيها DNA الفاج يحدث أحد أمرين :

الأمر الأول وهو الحالة العدائية :

Virulent stage (Lytic cycle) :

تعرف هذه الحالة بدورة التحلل Lytic cycle والتى تحدث إجباريّـــاً للخليـــة بسبب الحالة العدائية للفاج. تبدأ هذه الحالة من اللحظة التى يـــدخل فيهـــا DNA الفاج حيث يقوم مباشرة بهدم جميع إنزيمات الخلية البكتيرية وتحليل DNA الخلية البكتيرية نفسها واستخدامه فى عمل نسخ عديدة وكل نسخة بدورها تقوم بالعمـــل كشفرة وراثية Code فى بناء غلاف بروتينى جديد يغلف كل DNA جديد قـــد تكوّن . بذلك تتكون العديد من الفاجات داخل الخلية البكتيرية تتراوح أعدادها مـــن بضعة مئات إلى بضعة آلاف ، وبمجرد اكتمال تكوين الفاجات الجديدة فإنها تقـــوم بإفراز إنزيم Lysozyme الذى يقوم بتحليل جدار الخلية البكتيرية حيـــث تنطلـــق منها العديد من الفاجات الكاملة والتى تكون قادرة على إصابة خلايا بكتيرية أخرى (شكل ٢٤) .

الأمر الثانى وهو الحالة المعتدلة :

(Lysogenic pathway) Temperate stage :

تحت ظروف خاصة غير معروفة تماماً فإن الأمر الثانى قد يحدث ويتلخص فى أن جزىء الحامض النووى DNA الخاص بالفاج يلتصق بالحـــامض النـــووى DNA الخاص بالخلية البكتيرية ، ويظل فى هذا الوضع بصورة دائمة ويتكـــاثر بنفس معدل تكاثر الخلية البكتيرية ، ويعرف الفاج فى هذه الحالة باسم الفاج الأولى Prophage . قد يستمر هذا الحال لفترة قد تصل إلى مئات الأجيـــال المتتابعـــة ، وخلال هذه الفترة لا يتسبب عن وجود الفاج أى ضرر يذكر للخليـــة البكتيريـــة .

ولكن عاجلاً أو آجلا ينفصل DNA الخاص بالفاج عن DNA الخـــاص بالخليـــة البكتيرية ويتحول إلى الحالة العدائية ويتسبب فى موتها وخروج العديد من الفاجات الجديدة التى تصيب خلايا بكتيرية أخرى ، وتعرف الخلايا البكتيرية المحتوية على الفاج باسم الخلايا الليسوجينية Lysogenic cells ، وتقسم حالات الاستقطاع إلى :

١- Generalized transduction :

يحدث بواسطة بعض Virulent bacteriophages وبواسطة العديد من الفاجات فى الحالة المعتدلة Temperate bacteriophages والتى لم يحدث فيها Integration لكروموسومات الفاجات فى مواضع الاتصال المتخصصة Specified attachment sites على كروموسوم الخلية البكتيرية ، ويحدث ذلك أثناء دورة التحلــل للخليــة Lytic cycles بفعل هذه الفاجات .

٢- Specialized transduction :

يحدث الاستقطاع المتخصص بواسطة Temperate bacteriophages والتــى تكون كروموسوماتها قادرة على أن يحدث لها Integrate فى موقع أو عدد محدود من مواقع الاتصال المتخصصـــة Specific attachment sites علـــى كروموســـوم العائل.

حينئذ يكون كروموسوم الفاج فى الحالة المعتدلة هذه قادراً على أن يسلك أحـد الطريقين :

أ- Autonomous replication : أى يحدث له تضاعف مستقل عـن تضـاعف الكروموسوم البكتيرى .

ب- Integrated replication : وهنا يتضاعف كرموسوم الفاج كما لو كان جزءاً من كروموسوم الخلية البكتيرية .

كلا الحالتين تعد أمثلة للعناصر الوراثية التى تسمى بالـــ Episomes وفـــى هذه الحالة من Integrated state يطلق على كروموسوم الفاج بالـــ Prophage وفيها تتوقف Lytic genes الموجودة فى الفيروس (والتى تشمل الجينات المسئولة عن تكاثر وتحلل العائل) عن العمل (Turned off) are repressed .

وعندما يكون كروموسوم الفاج فى حالة Prophage state تسمى الخلايا البكتيرية التى تحمل الـ Prophage بالـ Lysogenic ، وتسمى العلاقة بين الفاج والعائل بالـ Lysogeny، وحينئذ تكون Lysogenic cell منيعة Is immune لأى إصابات ثانوية أخرى بنفس الفيروس أو بالفيروسات الشبيهة ، وذلك لأن جينات التحلل Lytic genes فى الفيروس المعدى سوف تتوقف عن العمل كتلك المتوقفة عن العمل فى Prophage .

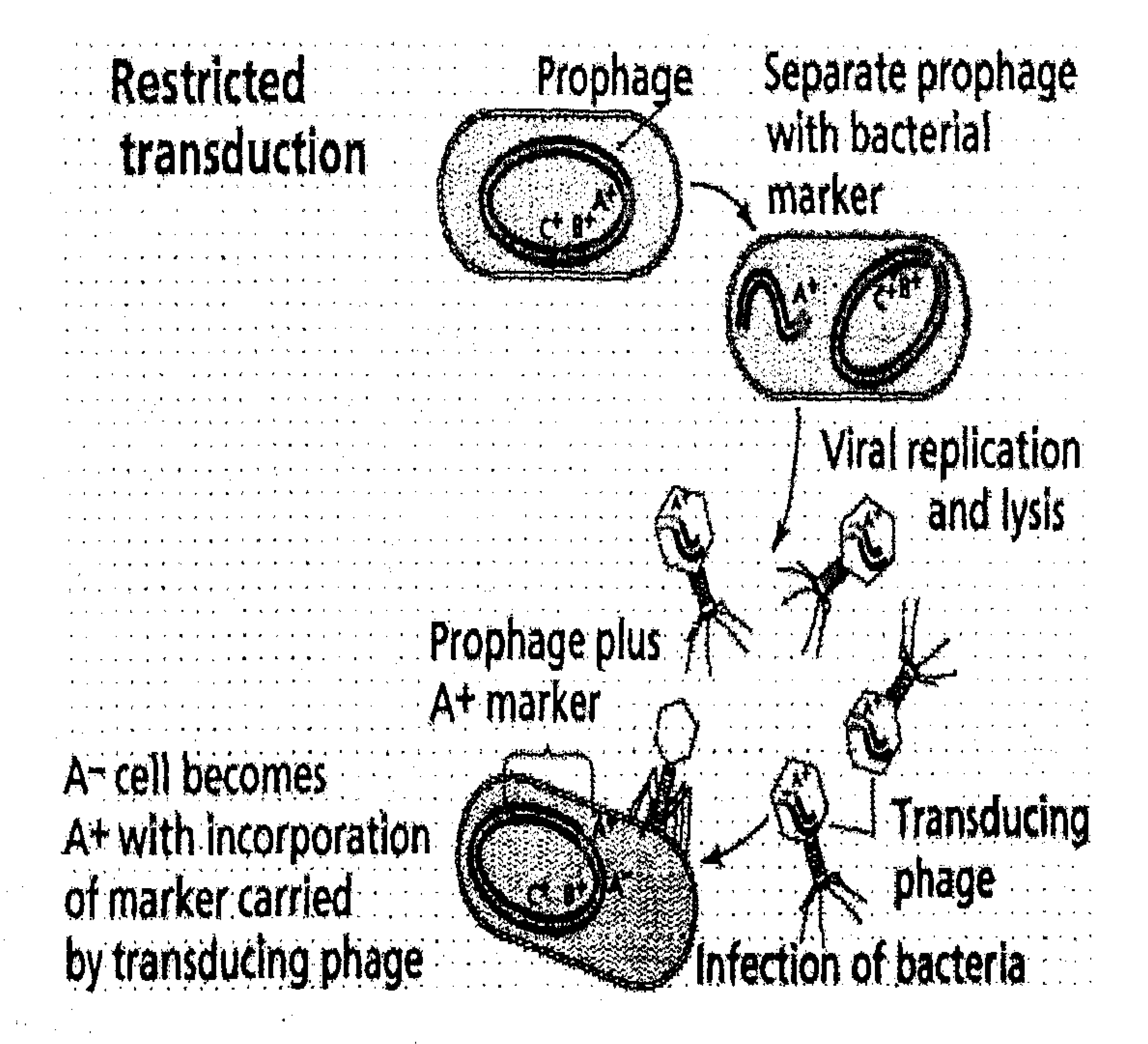
وتعد الفاجات فى الحالة المعتدلة نادرة الحدوث ويحدث الانتقال التلقائى المفاجئ من حالة Lysogenic or prophage state to the lytic state بفعل التعريض للإشعاع مثل أشعة UV ، وحينئذ ينفصل الفاج الأولى عن كروموسوم الخلية البكتيرية ويتضاعف ذاتياً وتحدث عملية القطع فى المواقع المتخصصة بطريقة مماثلة لعملية Integration ، وكلا العمليتين تتم بواسطة الإنزيمات التى تقوم بتشفيرها جينات الفاج، وعادة تحدث عملية القطع فى موقع يختلف عن موقع الالتحام الأصلى .

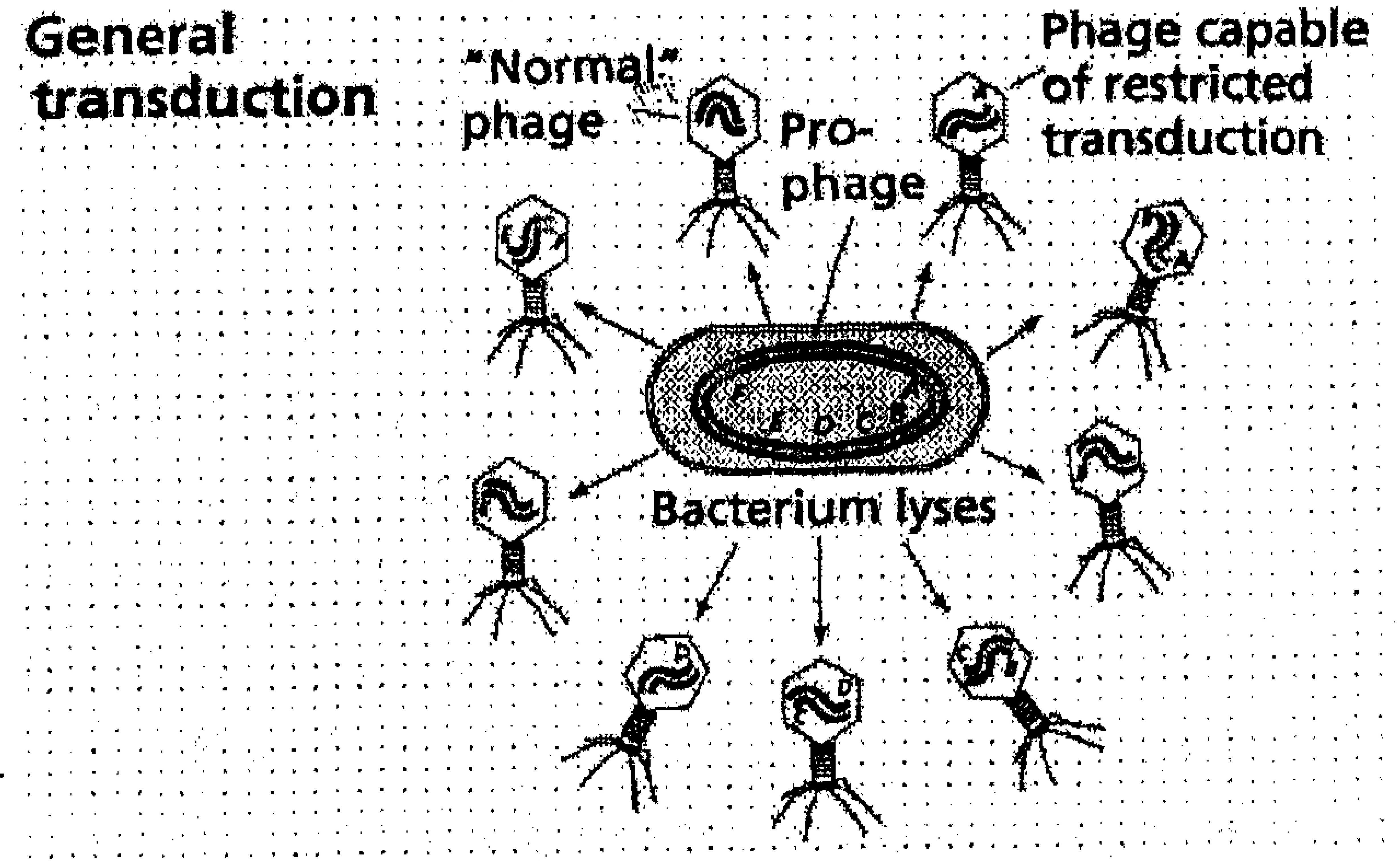
تبادل البكتيريا بالإستقطاع :

Bacterial transduction :

كما سبق وذكرنا فإن الاستقطاع يعنى انتقال جزء من المادة الوراثية المعروفة بالحامض النووى DNA من خلية بكتيرية إلى خلية بكتيرية أخرى عن طريق وسيط وهو الفاج . لاحظ العالمان Zinder & Lederberg بأنه عندما ينفصل الفاج الأولى Prophage عن كروموسوم الخلية البكتيرية أثناء تحوله من الحالة المعتدلة ليصبح فى حالة عدائية قد يحمل معه Fragment من DNA الخلية البكتيرية بعد التحامها بـ DNA الفاج نفسه وبذلك فإنها تصبح جزءاً من تكوين DNA الخاص به . عند خروج الفاج بعد تحلل الخلية يصبح حاملاً لهذه القطعة الزائدة، وعندما يصيب هذا الفاج خلية بكتيرية أخرى فإن القطعة المنقولة تدخل فى كروموسوم الخلية البكتيرية وتصبح جزءاً منه بواسطة عبور وراثى Crossing over أو أثناء تكاثر الخلية البكتيرية نفسها .

باندماج القطعة المنقولة فى DNA الخلية البكتيرية تكتسب الأخيرة صفة البكتيريا التى نقلت منها هذه القطعة عن طريق الفاج الذى قام باستقطاعها ونقلها من خلية بكتيرية إلى أخرى (شكل رقم ٢٥) .





شكل رقم ٢٥. يوضح حث عملية الاستقطاع بواسطة الفيروسات فى البكتيريا

الأمراض التى تسببها الفيروسات للنبات :

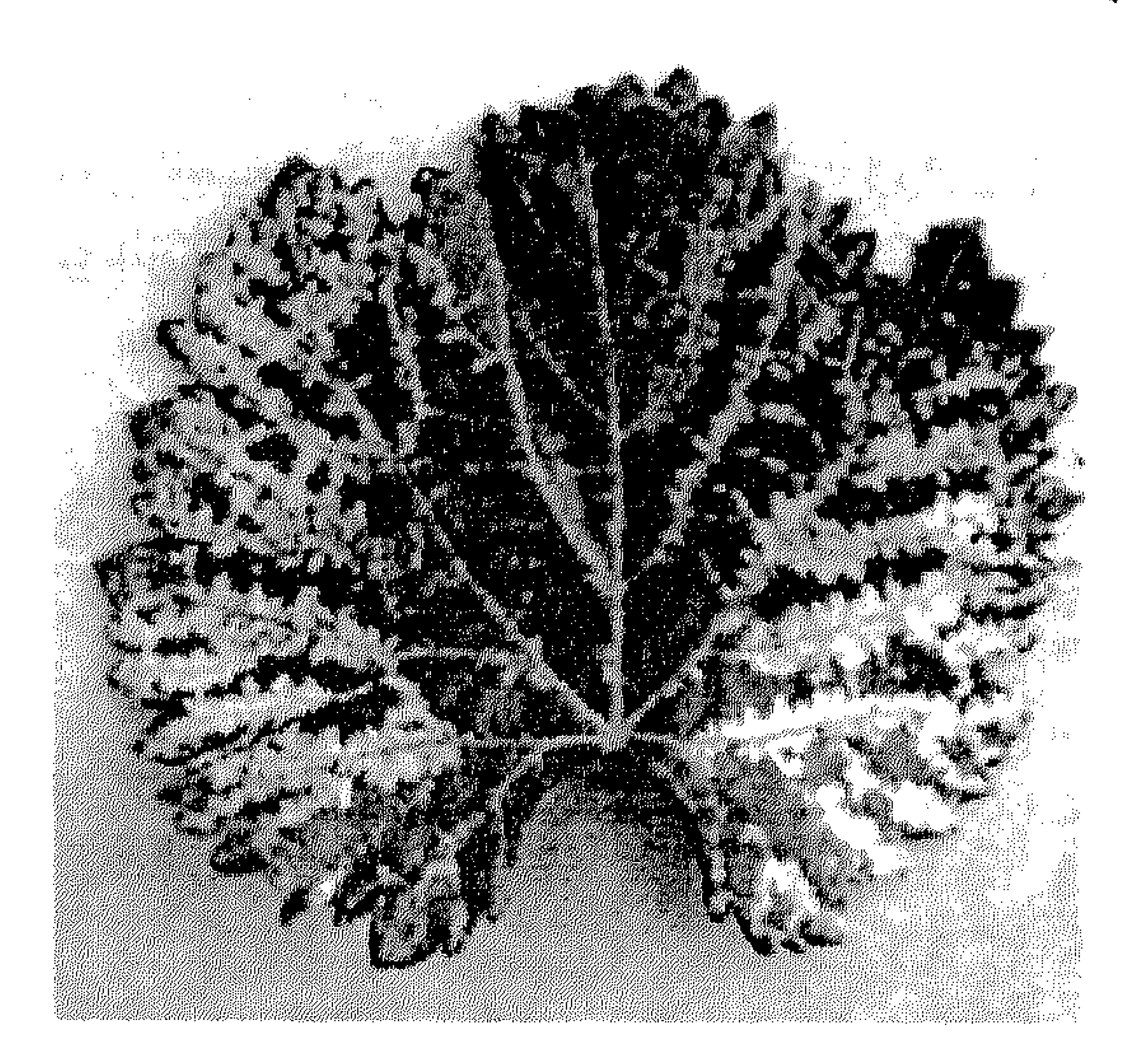
يمكن أن تسبب الفيروسات أمراضاً عديدة للنباتات تكون مسئولة عن إحــداث فقد كبير فى إنتاج وجودة المحاصيل مسببة بذلك انعدام الأمن الغذائي في كل أنحاء

العالم . تتمثل أعراض إصابة النباتات بالفيروس فى الغالب فى اصفرار الأوراق وتشوهها والتفافها وفى صفات نمو أخرى غير عادية فى الأزهار والثمار المتكونة (الأشكال أرقام ٢٦ ، ٢٧، ٢٨ ، ٢٩) .

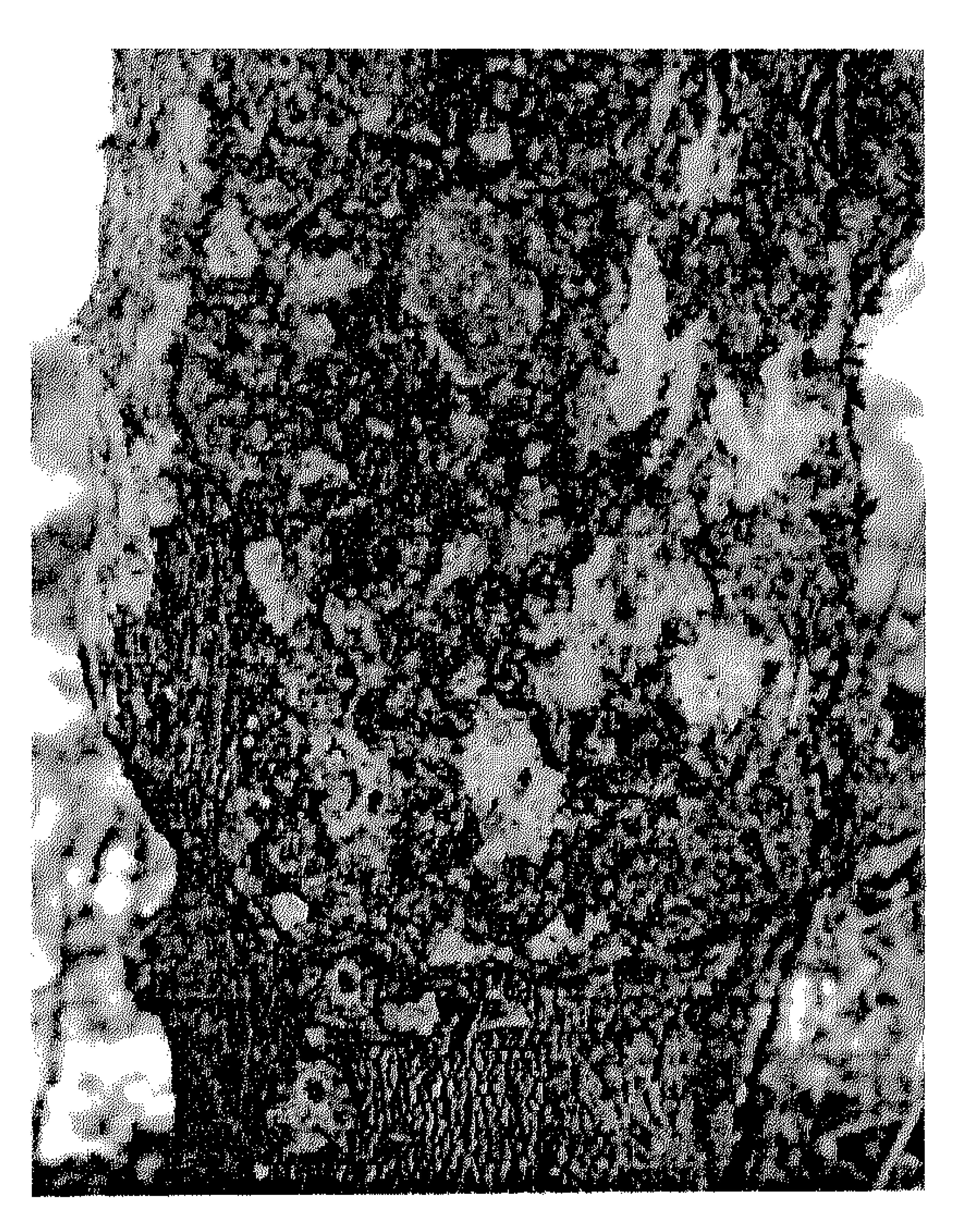


شكل رقم ٢٦ . أعراض تبرقش الأوراق باللون الأصفر فى الخس والمتسبب عن

Lettuce mosaic virus



شكل رقم ٢٧ . أعراض اصفرار عروق الأوراق المتسبب عن Grapevine fanleaf virus



شكل ٢٨ . تشوه قشور الشجر فى الموالح المتسبب عن Citrus psorosis virus



شكل ٢٩ . يوضح تشوه ثمار الباذنجان المتسبب عن فيروس Tomato bushy stunt virus مع ملاحظة أن الثمرة العادية هى الموجودة بيسار الشكل

وتعتبر طبقة الكوتيكل الشمعية هى التى تحمى النبات من دخول وغزو معظم الكائنات الدقيقة (بكتيريا ، فطر ، فيروس)؛ ولذا تعتبر الأمراض الفيروسية من الأمراض الشائعة التى تسبب فقد فى إنتاج النباتات ، وتحتوى الفيروسات على مادة وراثية بسيطة جدا very simple genomes وتعتمد الفيروسات على عوائلها فى معظم عملياتها الحيوية ، ويحتوى عدد بسيط من الفيروسات النباتية على DNA genome ، بينما يحتوى عدد كبير منها على single-stranded RNA genome وهى تحتوى على خيط واحد أو على عدد من جزيئات RNA . ولمعظم الفيروسات غلاف بروتينى يتكون من واحد أو أكثر من polypeptide molecules من نوع واحد أو أكثر والذى يحمى جينوم الفيروس من التحلل . والأمراض الفيروسية ليست لها ميكانيكية خاصة فى دخول خلية العائل ، فالجدار الخلوى للخلية النباتية وطبقة الكيوتيكل تعتبر من العوامل التى تحمى النباتات من الإصابة بالفيروسات ، وتعتمد الفيروسات النباتية على العصير الخلوى الذى ينتقل بفعل الفقاريات مثل الحشرات والنيماتودا ، كما يمكن أن تنتقل بواسطة الفطريات ، وفى بعض الحالات يعتبر animal transmitter كعائل وسطى وبذلك يمكن لبعض الفيروسات النباتية أن تتضاعف داخل النسيج الحيواني ، كما يمكن أن تتواجد بتركيزات مرتفعة داخل النسيج النباتى دون أن تسبب أى أعراض ظاهرة على العائل ، وبذلك تسمى فى

تلك الحالة latent infection . بينما العديد من الفيروسات تسبب أمراضاً قاسية للنباتات حتى وإن وجدت بتركيزات منخفضة ، والأمثلة على ذلك ما يلي (شكل رقم ٣٠ ، ٣١ ، ٣٢) :

Examples include :

1- Prunus necrotic ringspot virus (on roses),

ويتضح ذلك من الشكل التالي (شكل رقم ٣٠) الذى يوضح تبقع الأوراق الفيروسي فى الورد :

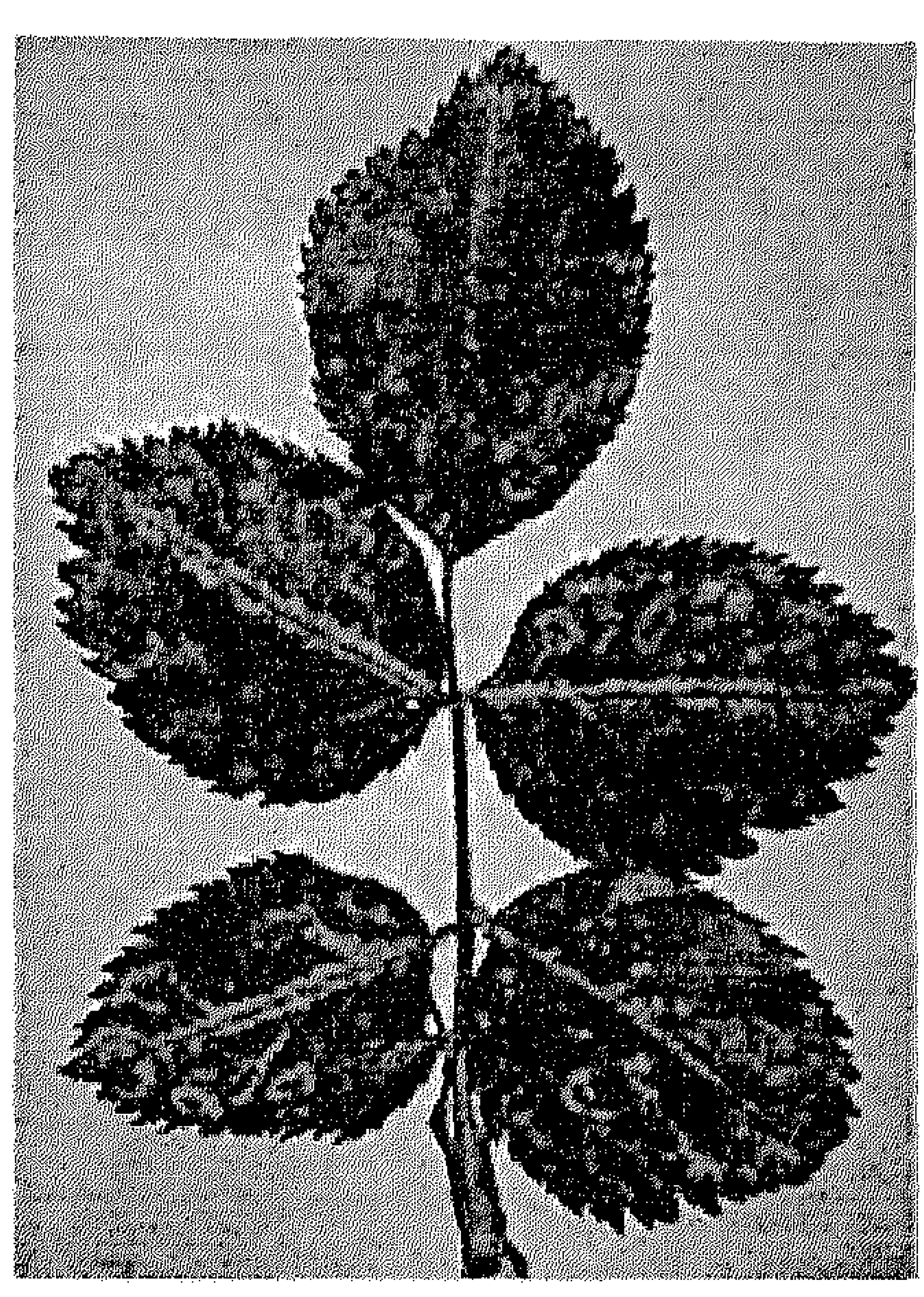
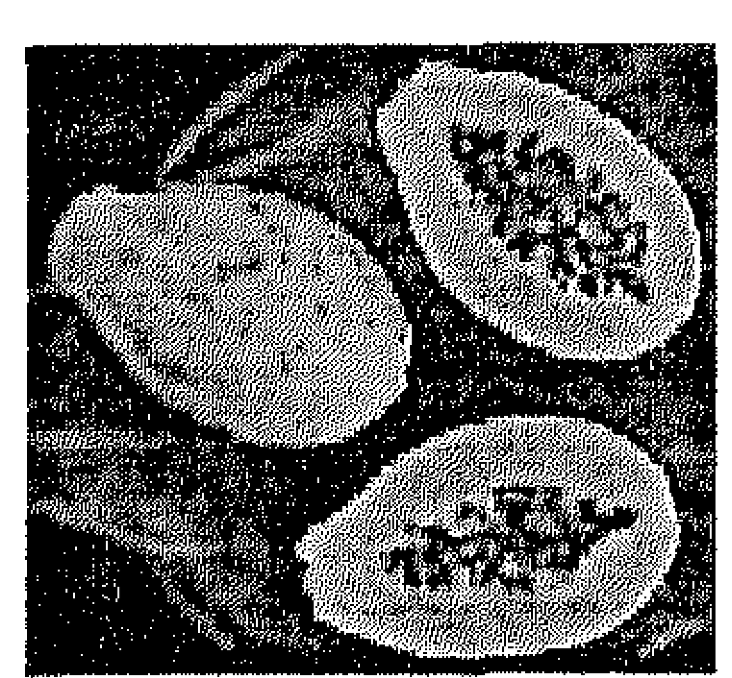


Figure 30 . Prunus necrotic ringspot virus on rose

2- beet necrotic yellow vein virus (also known as "rhizomania" on sugar beet)

3- cucumber mosaic virus (on cucumber and many other plants)

4- tomato aspermy virus (deformed fruit) and plum pox virus.

شكل رقم ٣١ : يوضح أعراض إصابة نبات Papaya بفيروس تبقع الأوراق

papaya ringspot

(PRSV) potyvirus فى تايلاند وهو من أكثر الأمراض الفيروسية التــى تصــيب البابيا على مستوى العالم .



شكل رقم ٣٢ : يوضح نباتات البابيا المعدلة وراثيا والتى لقحت بالفيروس كانت مقاومة للفيروس (يسار الشكل) ، أما نباتات البابيا غير المعدلة وراثيا حدثت لها إصابة عندما لقحت بالفيروس (يمين الشكل)

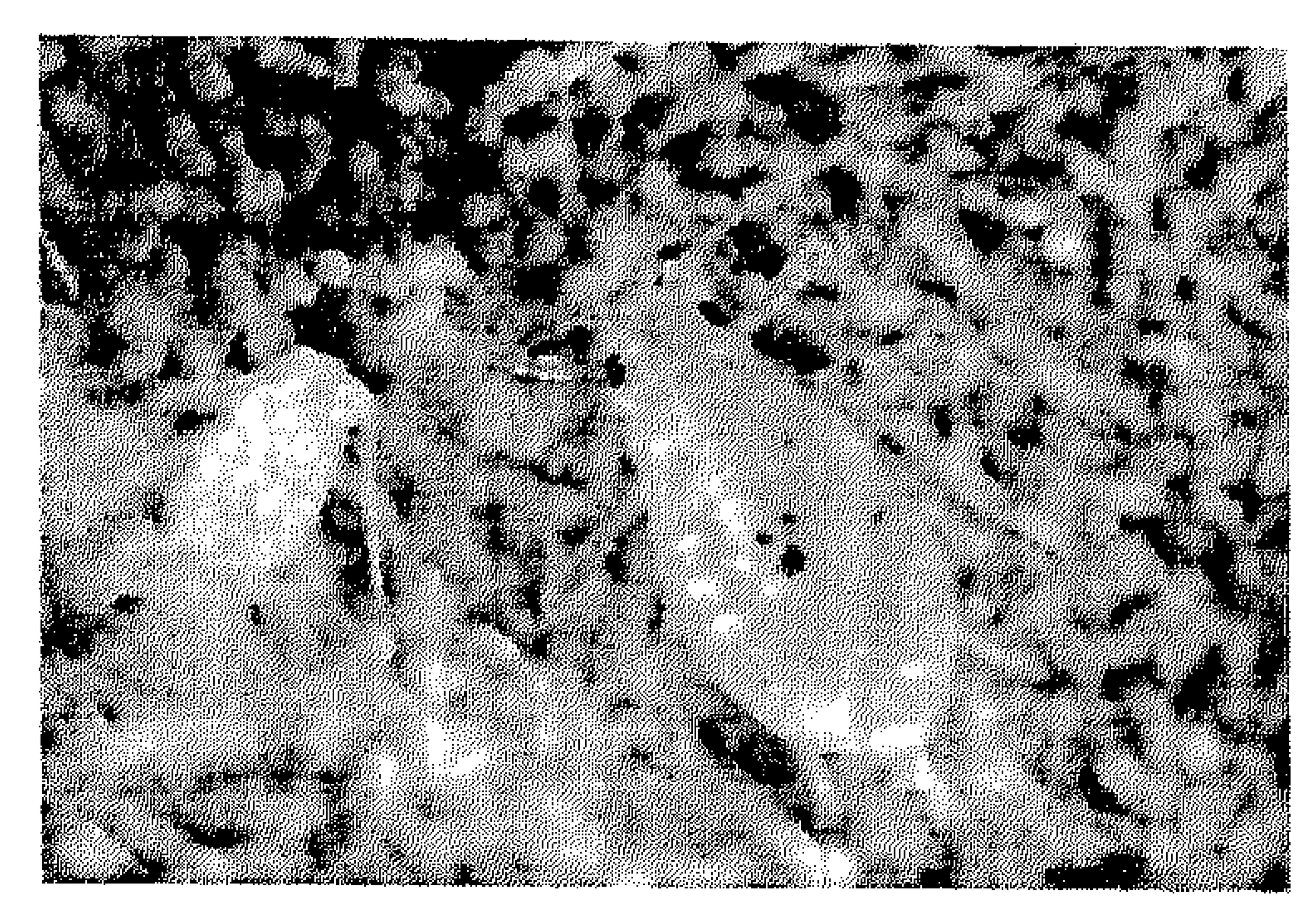
كيف تنتقل الفيروسات ؟

بعض الفيروسات الهامة التى تصيب الإنسان والحيوان يمكن أن تنتشر عــن طريق الضباب . معظم الفيروسات النباتية يمكن أن تنتقل بواسطة كائن ناقل لهــا كان يتغذى على النبات . عدد محدود من الفيروسات النباتية تنتقل من خلال حبوب اللقاح إلى البذور .

الكائنات الناقلة الرئيسية للفيروسات النباتية هى :

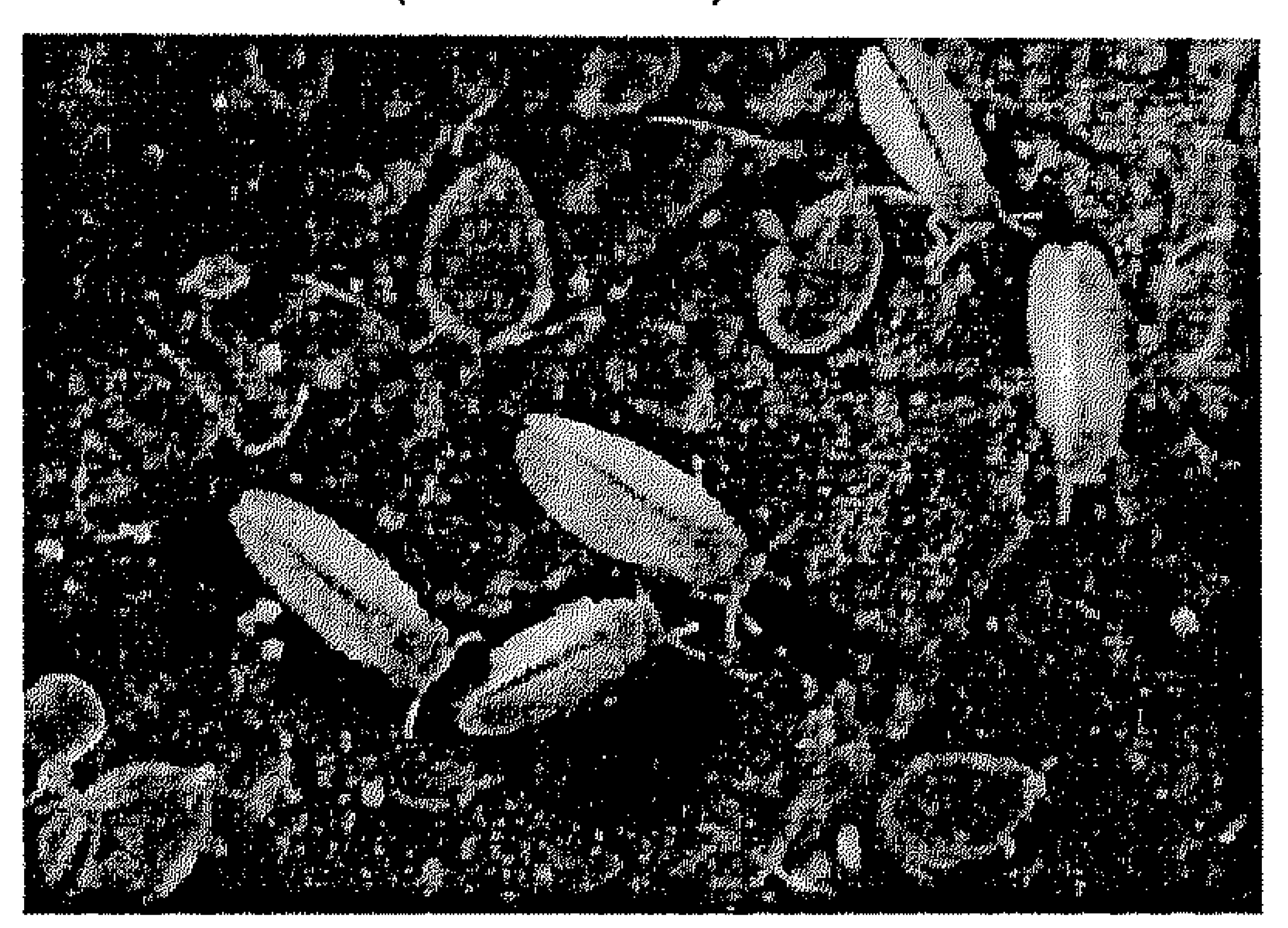
الحشرات : وهى تمثل الناقل الرئيسي للفيروسات ، وتشمل على الأخص كل من :

١- **المن Aphids :** الشكل التالي (شكل ٣٣) يوضح من الخوخ الأخضر .



شكل رقم ٣٣ . حشرة من الخوخ الأخضر

٢- الذبابة البيضاء Whiteflies (شكل ٣٤)



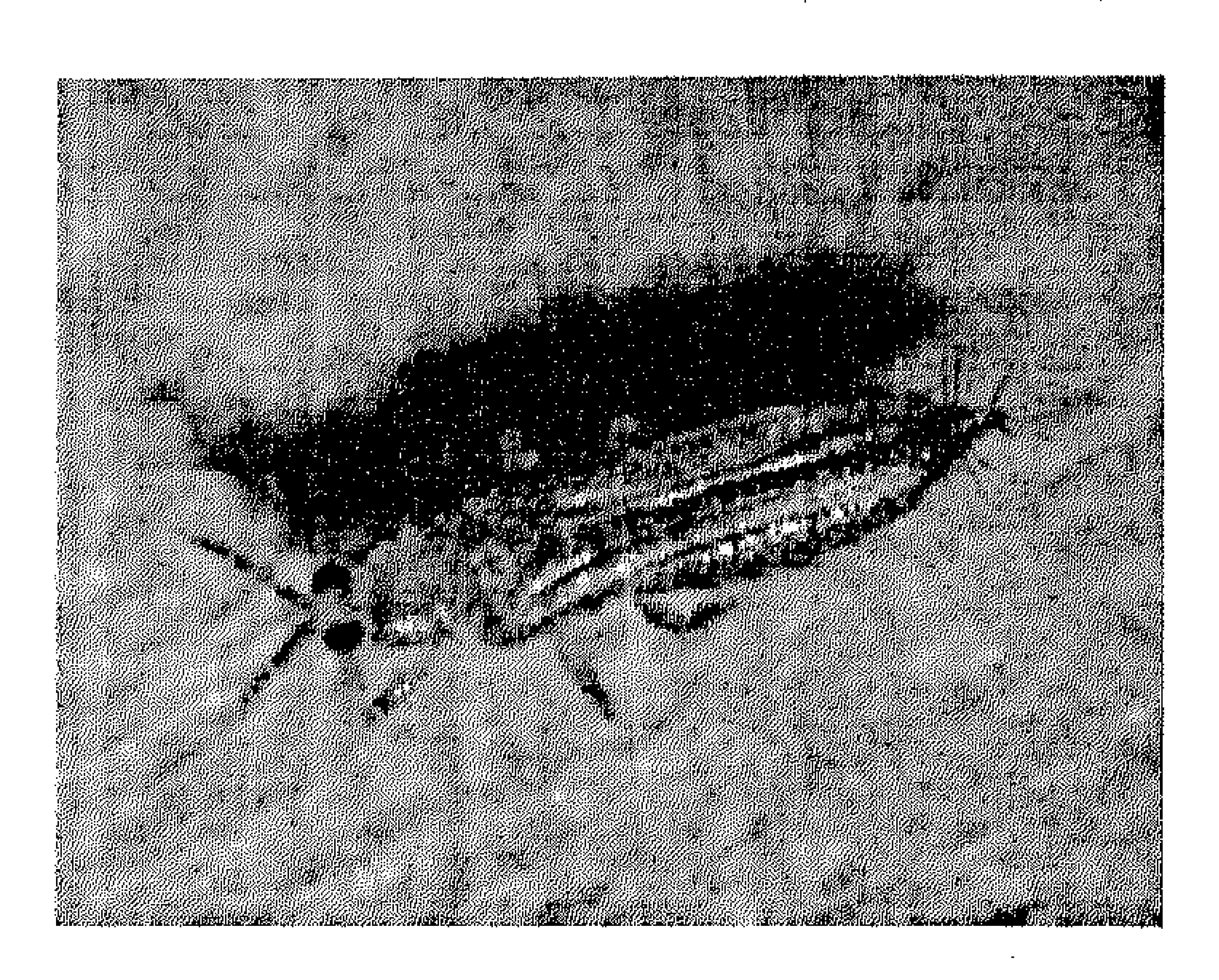
شكل رقم ٣٤ . يوضح الذبابة البيضاء

٣- النطاطات Hoppers (شكل ٣٥)



شكل رقم ٣٥ : يوضح حشرة النطاط

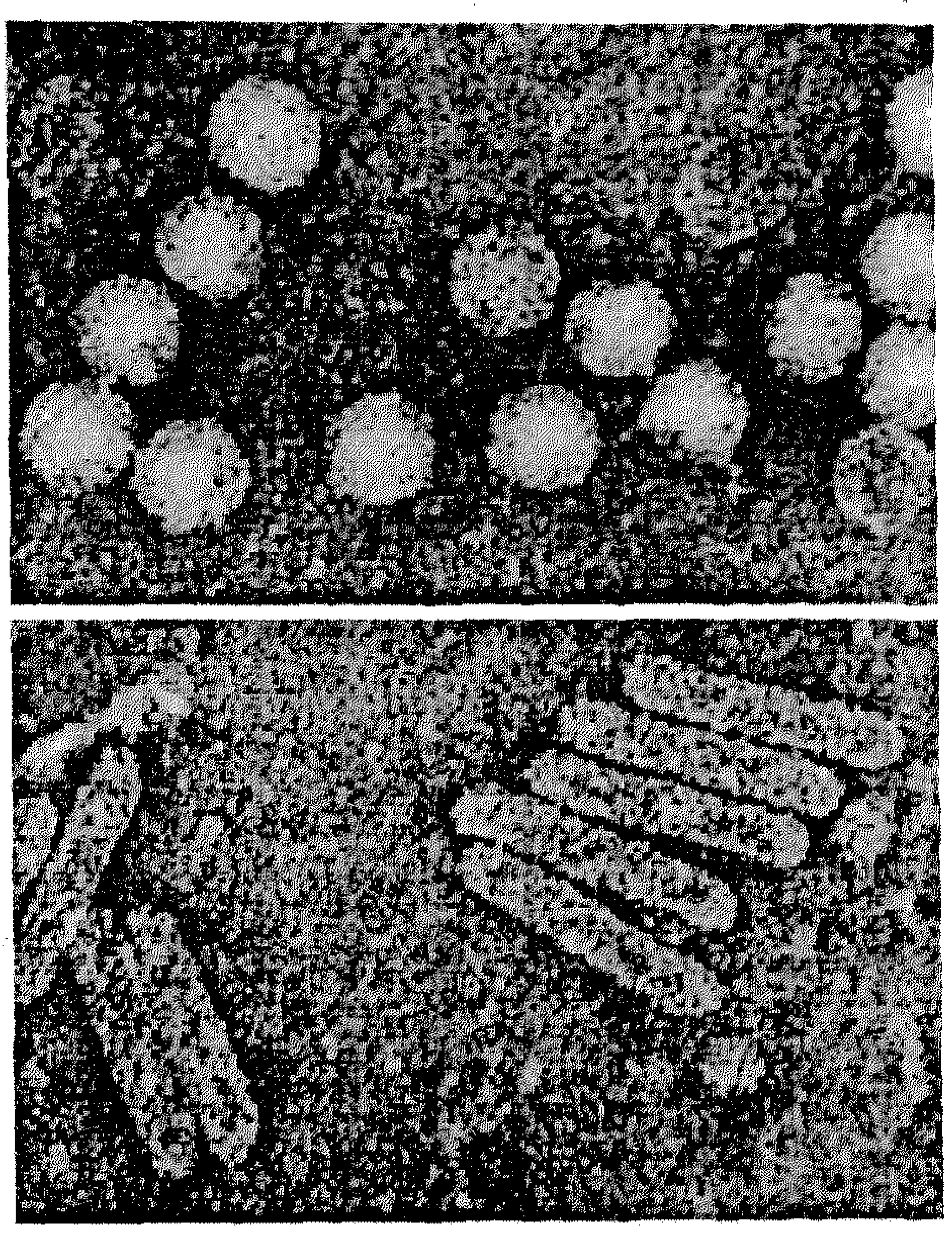
٤- التربس Thrips (شكل ٣٦)



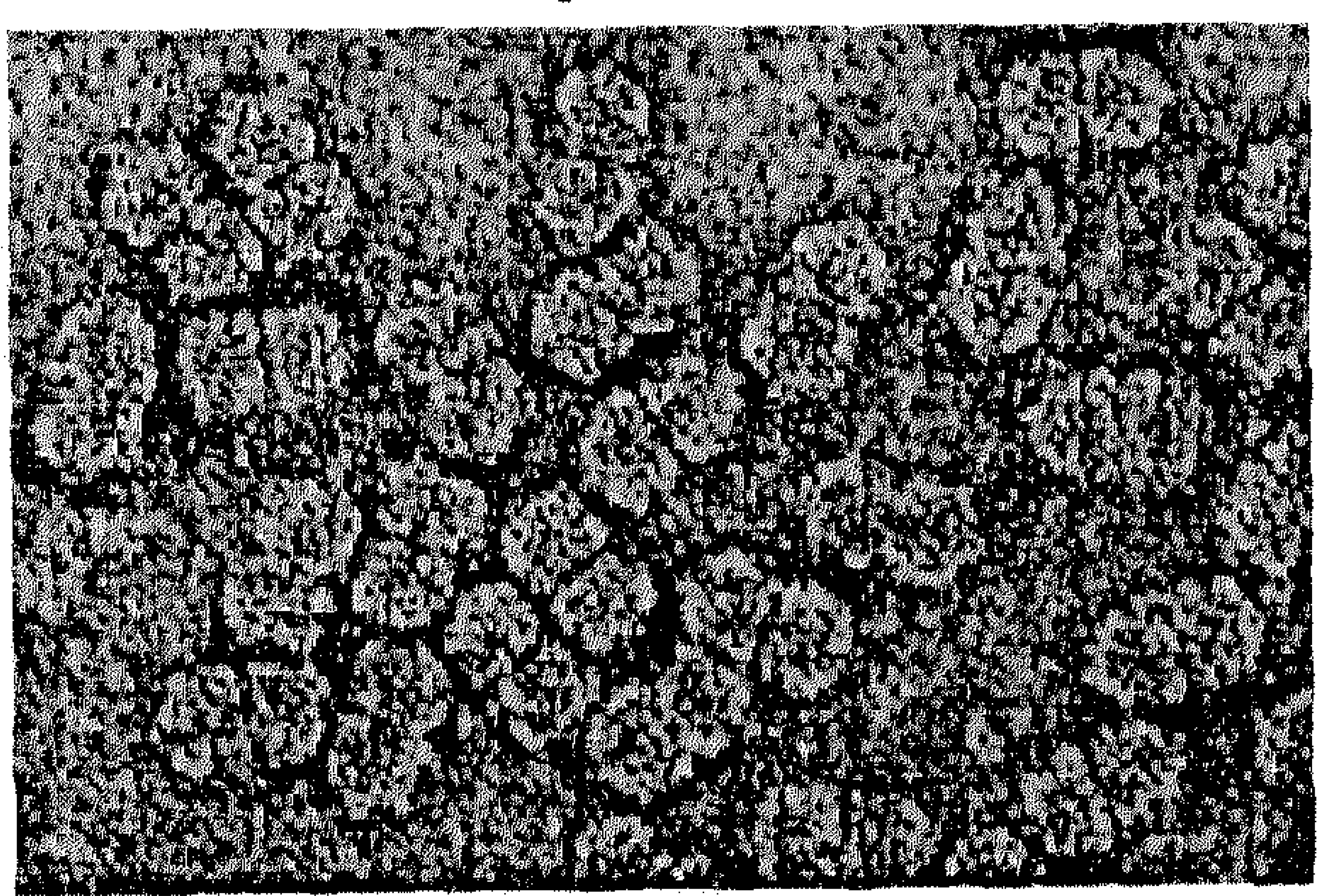
شكل رقم ٣٦ : يوضح حشرة التربس

وصف الفيروسات النباتية :

الفيروسات هى جزيئات معدية صغيرة جدا تتكـون مـن غـلاف بروتينـي وحامض نووي ، وتحمل الفيروسات شفرات معلوماتها الوراثية فـي حامضـها النووي ، عملية ترجمة الجينوم لإنتاج البروتينات أو نسخه وتضاعفه لإنتاج أكثـر من حامض نووي تحدثان داخل خلية العائـل المضـيف وتسـتعمل بعضـا مـن الميكانيكيات البيوكيميائية لخلية العائل المضيف ، والفيروسات لا تأسر أو تخـزن الطاقة الحرة وليست نشيطة من الناحية العملية خارج خلية العائل ، وهـى لـذلك تعتبر طفيليات ممرضة عادة ، أكثر الفيروسات تكون محددة بنوع معين من العائل فبعضها يصيب البكتيريا وتعرف بالـ bacteriophages ، بينما الأخـرى تصـيب الطحالب والبروتوزوا والفطريـات (mycoviruses) والفقاريـات واللافقاريـات والنباتات الوعائية vascular plants . والأشكال التالية (شكل رقم ٣٧ ، ٣٨) هى أشكال مختلفة توضح شكل الفيروسات تحت المجهر الإلكتروني ، على أسـاس أن شكل الفيروس إما أن يكون دائرى أو عصوى الشكل .



شكل ٣٧ . يوضح الشكل الدائري (أعلي الشكل) والشكل العصوى للفيروس تحت المجهر الإلكتروني



شكل رقم ٣٨ . يوضح الشكل شبه الدائري للفيروس تحت المجهر الإلكتروني

وعلى أية حال فإن بعض الفيروسات تنتقل بين الفقاريات أو العوائل النباتية بواسطة الناقلات الحشرية التى تتغذى على هذه العوائل ، وسوف نذكر هنا بعضا من المعلومات الوراثية والتقسيمية عن فيروسات الفطريات والبروتوزوا والفقاريات واللافقاريات حيث إن هذه تتعلق بفيروسات النباتات . سنعطي معلومات أيضا عن viroids والتى تحتوى على جزيئات RNA معدية (infectious RNA molecules)، والviroids جينوماتها صغيرة جدا عن الفيروسات (فهي تصل إلى حوالي ٤٠٠ نيوكليتيدة لخيط مفرد دائري من (up to 400 nucleotides of circular RNA single-stranded RNA ولا تشفر لأى بروتين .

لماذا تكون الفيروسات مهمة ؟

تسبب الفيروسات العديد من الأمراض ذات الاهتمامات العالمية ، فمن الفيروسات التى تصيب الإنسان : smallpox, polio, influenza, hepatitis, human immunodeficiency virus (HIV-AIDS)، وبينما تكون المضادات الحيوية فعالة جدا ضد الأمراض التى تسببها البكتيريا إلا أنها ليست فعالة ضد الفيروسات ، فمعظم قياسات السيطرة على الفيروسات تعتمد على الفاكسينات (الأجسام المضادة التى يتم تكونها ضد بعض مكونات الفيروس) أو لإغاثة الأعراض لتشجيع نظام الدفاع الخاص للجسم . تسبب الفيروسات أيضا العديد من أمراض النبات المهمة والمسئولة عن الخسائر الضخمة فى الإنتاج ونوعية المحصول فى كل أجزاء العالم والنباتات المصابة ربما تظهر مدى من الأعراض يعتمد على المرض ولكن فى الغالب يوجد اصفرار فى الأوراق leaf yellowing كنمط من الأشرطة أو اللطخات، وتشوه الأوراق مثل تجعد الورقة ، أو تشوهات أخرى فى النمو مثل الإعاقة الكاملة للنبات وحالات الشذوذ فى تشكل الأوراق والثمار . أحيانا إصابة الفيروس تكون محددة بأجزاء معينة من النبات (مثل النظام الوعائي ، البقع المنفصلة على الورقة) ولكن فى الأجزاء الأخرى من النبات فإنها تنتشر خلال النبات مسببة عدوي شاملة systemic infection . العدوى لا تؤدي دائما إلى أعراض مرئية كما هو مشاهد بواسطة فيروس القرنفلة المستتر Carnation latent virus وفيروس الزنبق الذي ليس له أعراض Lily symptomless virus وكلاهما يتبعان جنس genus Carlavirus . من حين لآخر تتسبب العدوى الفيروسية فى أعراض القيمة التزينية ornamental value مثل كسر الزنبق breaking' of tulips أو variegation of Abutilon . من غير الممكن أن تكون فيروسات النباتات تحت

السيطرة المباشرة بالمعاملة أو التطبيق الكيميائي . **الوسائل الرئيسية للسيطرة تعتمد على المرض وتتضمن ما يلي :**

١- **السيطرة البيولوجية أو الكيميائية على الناقل :** الناقل هو الكائن الذي يقوم بنقل المسبب المرضي وهو عادة الحشرات ، وهذه المقاومة تكون فعالة جدا عندما يحتاج الناقل الحشري إلى التغذية لبعض الوقت على المحصول قبل انتقال الفيروس ولكنها تكون أقل قيمة عندما يحدث الانتقال بسرعة كبيرة .

٢- **زراعة أصناف مقاومة من المحاصيل :** فى بعض المحاصيل وبالنسبة لبعض الفيروسات توجد مصادر ذات كفاءة عالية جدا للمقاومة بالنسبة لمربى النبات والتى يمكن استخدامها لعدة سنوات ، لقد أظهرت المقاومة المعدلة وراثيا Transgenic resistance وعد كبير للعديد من توافيق الفيروسات النباتية plant-virus combinations من خلال اكتشاف أن حقن جزء من جينوم الفيروس داخل العائل النباتي قد يؤدي إلى درجة كبيرة من المقاومة ، فعلى سبيل المثال استخدمت هذه النظرة فى هاواي Hawaii للسيطرة على فيروس Papaya ringspot virus والتى صدفت صناعة تخزين البابيا المحلية ، وظهرت هذه التقنية بصفة خاصة فى أوربا .

٢- **زراعة الأجزاء النباتية الخالية من الإصابة الفيروسية :** فى المحاصيل التى تتكاثر خضريا مثل البطاطس والعديد من محاصيل الفاكهة ، وعندما تكون الفيروسات تنتقل خلال البذرة فإن ذلك يحتاج إلى مجهودات كبيرة فى التربية لمقاومة الأمراض الفيروسية وشهادات ضمان certification schemes للتأكد من أن العينة النباتية خالية من الفيروس .

وبذلك يمكن القول أن الطرق الرئيسية لمكافحة الأمراض الفيروسية فى النبات تعتمد على كل من : السيطرة البيولوجية والكيميائية للناقل وهو الكائن الذى يقوم بنقل الفيروس وغالبا ما يكون الحشرات ، زراعة الأصناف المقاومة من النباتات ، زراعة مواد نباتية خالية من الفيروس .

كيف تقسم الفيروسات : إن أعلى مستوى لتقسيم الفيروسات يعترف بست مجموعات رئيسية تعتمد على طبيعة المادة الوراثية :

١- **الحلزون المزدوج للمـــادة الوراثيـــة** Double-stranded DNA (dsDNA)، لا توجد أى فيروسات نباتية فى هذه المجموعة ، وهذه المجموعة من الفيروسات تتضاعف بدون RNA وسطي RNA intermediate ، وهذه الفيروسات تتضمن مادة وراثية كبيرة معروفة تصل إلى حـــوالي ٤٠٠٠٠٠ زوج مـــن القواعـــد النيتروجينية ، ويوجد بها مكون وراثي واحد فقط والذي ربما يكون خطيّـــاً أو دائريّاً ، والفيروسات المعروفة فى هذه المجموعة تشمل فيروس داء الزهـــري herpes and pox viruses .

٢- **الفيروسات المحتوية على خـــيط مفـــرد مـــن** DNA Single-stranded DNA (ssDNA) : توجد عائلتان من الفيروسات النباتية فى هذه المجموعة ، وكل من هاتين العائلتين يوجد بها مكونات وراثيـــة دائريـــة صـــغيرة small circular genome components تتكون فى الغالب من قطعتين أو أكثر .

٣- **فيروسات النسخ العكسي** Reverse-transcribing viruses : هـــذه الفيروســـات تكون مادتها الوراثية عبارة عن حلزون مزدوج من الـــDNA أو خيط مفـــرد من RNA (these have dsDNA or ssRNA genomes) ، عملية تضاعف هذه الفيروسات تتضمن تخليق الـــDNA من الRNA بواسطة إنزيم النسخ العكسي by the enzyme reverse transcriptase ، العديد من هذه الفيروسات يحدث لهـــا اندماج فى جينومات العائل many integrate into their host genomes . هـــذه المجموعة تتضمن فيروسات retroviruses والتى منها فيروس نقص المناعـــة الذاتية المسبب لمرض الإيدز فى الإنسان Human immunodeficiency virus (HIV), the cause of AIDS ، وتوجد عائلة واحدة من الفيروسات النباتية تقـــع فى هذه المجموعة ويمكن تصنيفها على أساس أنها تحتوي على مكون فـــردي من المادة الوراثية على شكل حلقي single component of circular dsDNA ، عملية تضاعف هذه الفيروسات يتخللها RNA intermediate .

٤- **الفيروسات التى تحتوي على حلزون مـــزدوج مـــن المـــادة الوراثيـــة** RNA (Double-stranded RNA (dsRNA) ، فبعض الفيروسات النباتية والعديد من الفيروسات التى تصيب الفطريات mycoviruses تقع فى هذه المجموعة .

٥- **الفيروسات المحتوية على خيط مفرد ســـلبي مـــن** RNA (Negative sense single-stranded RNA (ssRNA-)) : فى هذه المجموعة بعض أو كل الجينات

يتم ترجمتها إلى بروتين من خيط RNA المكمل لذلك الموجود فى الجينوم ، توجد بعض الفيروسات النباتية فى هذه المجموعة ، وهى أيضا تتضمن فيروسات الإنفلونزا والحصبة وداء الكلب .

٦- **الفيروسات المحتوية على خيط مفرد موجب من RNA** [Positive sense single-stranded RNA (ssRNA+)] : تقع أغلب الفيروسات النباتية فى هذه المجموعة وتتضمن أغلب الفيروسات التى تسبب الأمراض التنفسية بما فى ذلك الفيروس المسبب لمرض الزكام العادي common cold وتشمل أيضا الفيروس المسبب لمرض شلل الأطفال ومرض الحمى القلاعية .

داخل كل من هذه المجاميع توجد العديد من الاختلافات التى تستخدم لتصنيف الفيروسات إلى عائلات وأجناس وأنواع families, genera and species ، وتستخدم أيضا دمج الخصائص وبعض الصفات الهامة التالية :

- **شكل الجزيئات** Particle morphology وحجمها التى تظهر تحت الميكروسكوب.
- **الخصائص الوراثية** وهذه تتضمن عدد من مكونات المادة الوراثية وإستراتيجية الترجمة للمادة الوراثية ، فعندما يتم تحديد تتابع الجينوم فإن علاقة الجينومات المختلفة تعد عاملا هاما فى الغالب فى التمييز بين الأنواع .
- **الخصائص البيولوجية** Biological properties وهذه تتضمن نوع العائل وطبيعة النقل .
- **الامتلاك السيرولوجي** Serological properties وهذا يتضمن العلاقة بين بروتينات الفيروسات .

خصائص جينوم الفيروس :

١- **طبيعة جينوم الفيروس** أنه دائري (كما هو معروف فى كل الفيروسات النباتية المحتوية على DNA) أو خطي .

٢- **عدد مكونات الجينوم** هذه تختلف من مكون فردي كما فى أجناس Potyvirus and Tobamovirus إلى ١١ (كما فى بعض أفراد الجنس Nanovirus)، المكونات الفردية تختلف .

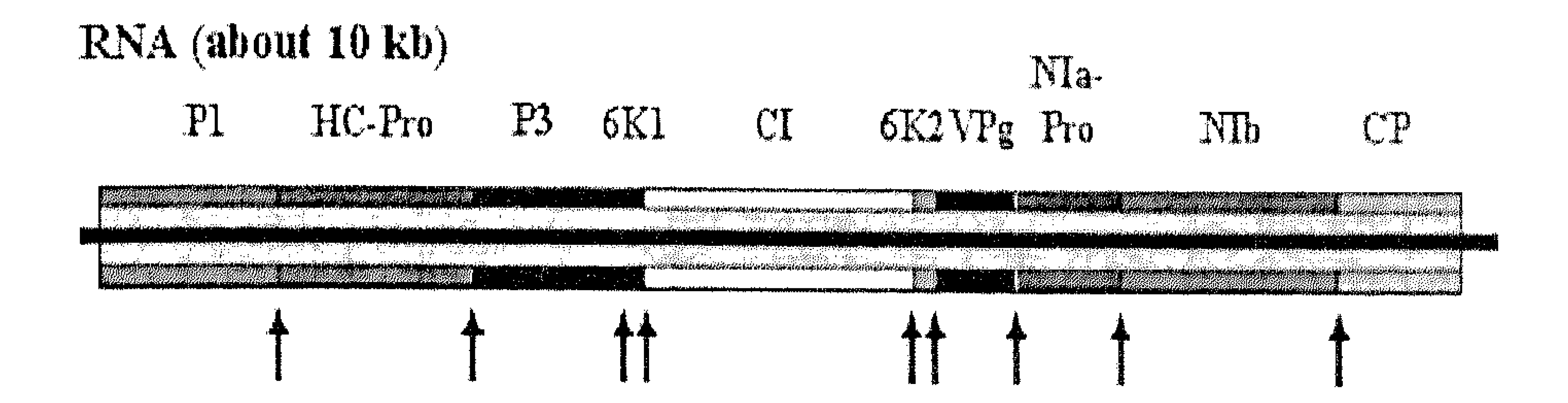
فى حجمها من حوالي واحد كيلو قاعدة (Nanovirus components) إلى حوالي ٢٠ كيلو قاعدة (كما فى الجنس Closterovirus .

٣- **عدد الجينات** : هذه تختلف بدرجة كبيرة ، فمعظم الفيروسات النباتية تحتوى على ٣ جينات على الأقل : واحد أو أكثر يتعلق بتضاعف الحامض النووي ، واحد أو أكثر يتعلق بحركة الفيروس من خلية لخلية ، واحد أو أكثر يتعلق بتشفير البروتين التركيبي والذي يتم تجميعه فى الجزيء الفيروسي ليكون ما يسمى بالغلاف أو القصرة البروتينية usually called the "coat" or "capsid" protein ، وربما توجد أيضا جينات إضافية لها وظيفة تنظيمية والتى ربما تلزم للانتقال بين النباتات بمصاحبة الناقل للفيروس .

٤- **إستراتيجية الترجمة** : أنواع أو تشكيلة من الإستراتيجيات تستخدم فى ترجمة الجينات من مكونات الجينوم الفيروسي إما مباشرة أو من خلال mRNA ، وذلك فى بعض الحالات للسماح بكميات مختلفة من البروتين أن تنتج من مختلف الجينات ، **وهنا سنذكر ثلاثة أمثلة لتوضيح هذه الاختلافات :**

أ – جنس Potyvirus :

وهو أكبر الأجناس الفيروسية ومحتواه من المادة الوراثية عبارة عن خيط واحد مفرد من RNA (one ssRNA component) والذى يشفر إلى سلسلة واحدة عديدة البروتين وزنها الجزىء ٣٥٠ كيلو دالتون ، هذا الـ polyprotein يتم انشطاره بفعل ٣ إنزيمات مختلفة من البروتيز 3 different proteases (كلها يتم تشفيرها بواسطة الفيروس نفسه) إلى ١٠ بروتينات مختلفة ناضجة . اثنان من البروتينات فى النهاية C-terminus للسلسلة عديدة البروتين على الترتيب لها علاقة بارتباط إنزيم RNA polymerase بالـ RNA (وهذه تدخل فى عملية تضاعف الفيروس) وفى تكوين الغلاف البروتيني الفردي . العديد من البروتينات لها وظائف متعددة ، الشكل التالي (شكل رقم ٣٩) يوضح أجزاء الجينوم الفيروسي متضمنا ١٠ بروتينات ناضجة و٩ مواقع انشطارية لأسفل .



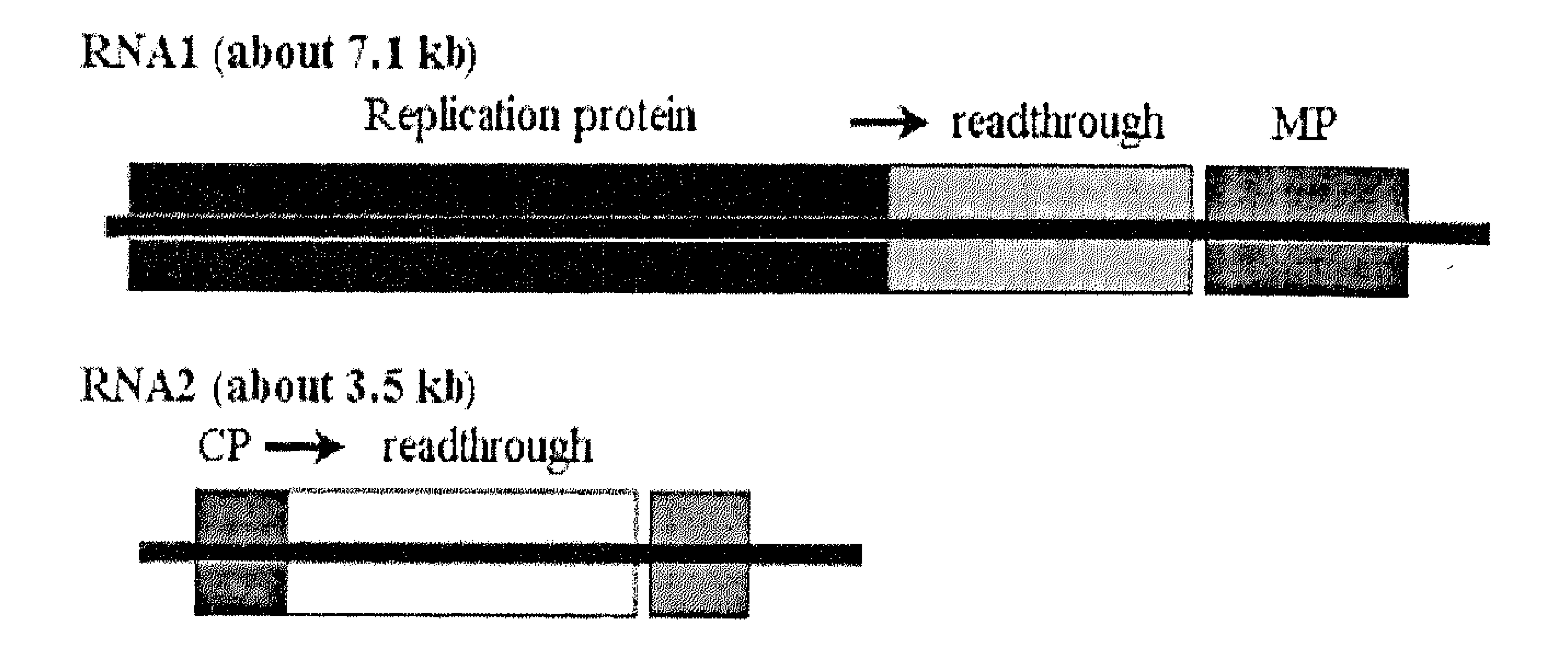
شكل رقم ٣٩ . يوضح أجزاء الجينوم الفيروسي متضمنا
١٠ بروتينات ناضجة و٩ مواقع انشطارية لأسفل

ب - جنس Furovirus :

فى هذا الجنس تتكون المادة الوراثية من خيطين فـرديين مـن RNA (two ssRNA components) ، النهاية ٥ 5'-proximal gene فى كل RNA يتم ترجمتها مباشرة من genomic RNA : من على RNA1 وهو أكبر مكون من RNA وهـذا الجين يشفر إلى بروتين التضاعف replication protein والجين الموجـود علـى RNA2 يشفر إلى الغلاف البروتيني . كودونات التوقف stop codons لكل من هذه الجينات تكون ناضجة "leaky" ، وفى نسبة صغيرة من الحالات تسـتمر عمليـة الترجمة لإنتاج بروتين أكبر .

يمتد بروتين التضاعف على RNA1 ليشمل إنـزيم RNA polymerase الـذى يعمل على تضاعف RNA ، بينما منطقة readthrough region للغلاف البروتينـي ربما تلزم فى التجميع الجزيئي وفى الانتقال بواسطة الناقـل plasmodiophorid . يوجد جين أخر فى النهاية 3'-proximal على كل خيط من خيوط الـRNA الفردي، وهذه تتم ترجمتها من عند النهاية ٣ للجينوم عن طريق subgenomic" mRNAs . ذلك الموجود على RNA_1 هو بروتين يتعلق بالحركة من خلية لخلية ممـا يمكـن الفيروس من الحركة بين الخلايا النباتية الملتصقة معا من خلال plasmodesmata ، بينما وظيفة الناتج من RNA_2 ربما يتدخل فى توقف دفاع العائل النباتي عن نفسه. الشكل التالي (شكل رقم ٤٠) يوضح أجزاء الجينوم فـى هـذه المجموعـة مـن الفيروسات :

The genome organisation of a typical member is shown here



شكل رقم ٤٠ . يوضح أجزاء الجينوم فى جنس الفيروسات Furovirus والذي فيه تتكون المادة الوراثية من خيطين فرديين من RNA
(two ssRNA components)

ج - جنس Fijivirus :

فى هذا الجنس يوجد ١٠ مكونات من خيوط RNA المزدوجة (10 components of dsRNA) ، معظم هذه المكونات تشفر إلى بروتين فردي وثلاثة منها تشفر إلى بروتينات تركيبية ، تتجمع لتكون الفيروس المعقد .

العلاقة الجينومية Genome relatedness : درجة تماثل النيوكليتيدات (أو تماثل الأحماض الأمينية فى سلسلة البروتين) بين التتابعات تستخدم غالبا لاختبار العلاقة االفيروسية المختلفة ، على سبيل المثال ، أوضحت دراسة حديثة أن الجنس Carlavirus أظهر عند مقارنة الأنواع المختلفة أن تماثل النيوكليتيدات أقل من ٧٣% (أو ٨٠% تماثل فى الأحماض الأمينية فى غلافه البروتيني) .

الخصائص السيرولوجية Serological properties : العديد من الفيروسات تعتبر أنتيجينات جيدة أو بمعنى آخر مستضدات جيدة Many viruses are good antigens (تعمل على إنتاج قوى للأجسام المضادة يمكن التعرف عليها عند تنقية التحضيرات المحقونة فى الثدييات) ، وهذه الخاصية استغلت على نحو واسع لإنتاج أجسام مضادة معينة يمكن أن تستعمل فى الكشف عن الفيروس ولفحص العلاقات بين الفيروسات . استعملت الدراسات المبكرة أطباق انتشار الأجار فى

الكشف عن الفيروس ، ولكن فى العشرين سنة الأخيرة توقفت هـذه الاختبـارات بشكل كبير بواسطة طريقـة ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ، بالرغم من أن الخصائص السيرولوجية لازالت مهمة ، إلا أن أهميتها فى التصنيف قد انحدرت إلى بعض المدى (قليلا) وذلك بسبب توفر البيانات الخاصـة بتتـابع النيوكليتيدات nucleotide sequence data are available .

الخلاصة :

هى أن حالات التحول والاستقطاع فى البكتريا تقدم أحسـن دليـل علـى أن الحامض النووى DNA هو الحامل للمادة الوراثيـة فـى الخليـة ، ففـي حالـة Transduction تنتقل المادة الوراثية من خلية بكتيرية إلى أخرى بواسطة Phage vector ، بينما فى حالة Conjugation فإن عامل الجنس F factor يعمل علـى تنبيه الاتصال المباشر بين الخلايا المعطية والمستقبلة مؤدياً إلـى تكـوين أنبوبـة التزاوج بين الخلايا المقترنة معاً حيث تنتقل خلالها المادة الوراثيـة مـن الخليـة البكتيرية المعطية إلى الخلية المستقبلة .

الأسئلة :

١- اذكر ما تعرفه عن طبيعة المادة الوراثية فى كل من البكتيريا والفيروس ؟

٢- علل لماذا تكون أغلب البلازميدات غير ضرورية لعوائلها ؟

٣- أذكر الأسـاس الـوراثي لنشـأة التورمـات فـى منـاطق إصـابة النبـات بالأجروباكتيريم؟

٤- وضح كيف يتضاعف الكروموسوم البكتيري ؟

٥- بالرغم من أن البلازميدات والإيبوسـومات عناصـر وراثيـة تقـع خـارج الكروموسوم البكتيري إلا أنها كلمات غير مترادفة ، علل ذلك ؟

٦- اذكر تجربة تثبت بها حدوث التزاوج الجنسي فى البكتريا ؟

٧- اذكر ما تعرفه عن الحالات التى يتواجد فيها عامل الجنس فى البكتيريا ؟

٨- وضح مراحل دورة حياة الفيروس وكيف يقوم الفيروس باستقطاع جزء من المادة الوراثية من خلية بكتيرية ونقلها لخلية بكتيرية أخري ؟

٩- أذكر الأعراض المرضية التى تسببها الفيروسات للنباتات ووسائل نقل الأمراض الفيروسية من نبات لأخر ؟

١٠- أذكر الطرق الرئيسية للسيطرة على الأمراض الفيروسية فى النبات ؟

١١- وضح كيف تقسم الفيروسات إلى مجاميع مختلفة على أسس وراثية ؟

١٢- أذكر خصائص جينوم الفيروس ؟

١٣- علل سبب انحدار الخصائص السيرولوجية فى تصنيف الفيروسات ؟

١٤- اشرح إستراتيجية ترجمة الجينات للجينوم الفيروسي ؟

أجب بنعم أو لا مع التعليل :

١- البلازميدات هى وحدات من المادة الوراثية ليست لها القدرة على الالتحام بالكروموسوم الرئيسي للخلية وليست لها القدرة على التضاعف ؟

٢- البلازميد Ti قادر على تحويل خلايا النباتات ذوات الفلقتين إلى خلايا ورمية مسببا مرض التدرن التاجي ؟

٣- تشفر الجينات الآتية من البلازميد والمندمجة فى الخلايا النباتية إلى الإنزيمات التى تشجع على النمو المستمر وغير المنضبط للورم الذى بدأ من التدرن الناجم عن الإصابة البكتيرية ؟

٤- معظم البلازميدات تعد غير ضرورية للخلايا التى تحملها ؟

٥- الإيبوسومات هى عناصر وراثية يمكن أن تتضاعف كجزء يدخل فى الكروموسوم الرئيسي للخلية أو مستقلة عنه مثل جينوم ال E. Coli؟

٦- سلالات Hfr هى سلالات التحم فيها عامل الجنس F بالكروموسوم البكتيري ؟

٧- Recombinant F factors هى عبارة عن عامل الجنس F الذي يحمل جينات كروموسومية بسبب حدوث قطع شاذ عن كروموسوم السلالة Hfr ؟

٨- يحدث Generalized transduction بواسطة العديد من الفاجات فى الحالة المعتدلة وبواسطة بعض الفاجات فى الحالة العدائية ؟

٩- عندما تكون الفاجات فى الحالة المعتدلة تتوقف Lytic genes الموجودة فى الفيروس عن العمل ؟

اختر الإجابة الصحيحة فقط من بين الإجابات المتعددة التالية :

١- من مميزات الكائنات غير مميزة النواة أنها :

أ- غير محاطة بغشاء نووي .

ب- محاطة بغشاء نووي ..

ج- تفتقد بعض التراكيب الموجودة فى خلايا الكائنات مميزة النواة كالميتوكوندريا والريبوسومات .

د- العدد الأكبر من جيناتها ينتظم فى خريطة كروموسومية عبارة عن مجموعة ارتباطية واحدة مقفولة الطرفين دائرية الشكل .

هـ- جميع الإجابات السابقة خطأ عدا أ ، د .

٢- أول من قام بعمل أول خريطة وراثية مبسطة لكروموسوم E. coli هو :

أ- Lederberg فى عام ١٩٤٧ .

ب- Tatum and Lederberg فى عام ١٩٤٨ .

ج- Anderson , Wollman and Jacob .

د- Brenner عام ١٩٥٩ .

٣- **فى** Lysogenic pathway **من دورة حياة الفاج يحدث الآتي :**

أ- يلتصق جزيء DNA الخاص بالفاج مع DNA الخلية البكتيرية ويعرف باسم Prophage .

ب- فى النهاية ينفصل DNA الفاج عن DNA الخلية البكتيرية ويتحول إلى الحالة العدائية .

ج- يقوم الفاج مباشرة بهدم جميع إنزيمـــات الخليـــة البكتيريـــة وتحليـــل الـــDNA الخاص بها ويستخدمه فى عمل نسخ عديدة منه .

د- جميع الإجابات السابقة صحيحة .

ه- جميع الإجابات السابقة خطأ عدا (أ) ، (ب) .

٤- الـــ Lysogenic cell المحتوية على Prophage تكون منيعة لأى إصـــابات ثانوية أخري بنفس الفيروس أو الفيروسات الشبيهة بسبب :

أ- أن جينات التحلل فى الفيروس المعدى تتوقف عن العمل كتلك المتوقفة عن العمل فى ال Prophage .

ب- تحول الفاجات من الحالة المعتدلة إلى الحالة العدائية .

ج- حدوث قطع فى DNA الفاج فى موقع يختلف عـــن موقـــع الالتحـــام الأصلي .

٥- **من الوسائل الرئيسية للسيطرة على الأمراض الفيروسية :**

أ- السيطرة البيولوجية أو الكيميائية على الناقل مثل الإنسان .

ب- زراعة أصناف مقاومة من المحاصيل وزراعة الأجزاء النباتية الخالية من الإصابات الفيروسية .

٦- **أعلى مستوى لتقسيم الفيروسات يعتمد على :**

أ- طبيعة المادة الوراثية وهذا التقسيم يعترف بست مجموعات رئيسية .

ب- شكل الجزيئات وحجمها تحت الميكروسكوب .

الباب الثاني

الفصل الأول

وراثة المقاومة للأمراض فى النبات

الأهداف: من المتوقع في نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا علي أن :

١- يتعرف علي كيفية إصابة النبات بالطفيل .
٢- يستوعب الموانع التى تمنع أو تقلل من الإصابة بالطفيل .
٣- يتعرف علي طبيعة النباتات للمقاومة .
٤- يفهم طرز المقاومة .
٥- يتعرف علي عدد الجينات التى تتحكم فى وراثة المقاومة (جين أو جينين أو أكثر) .
٦- يفهم خصائص وراثة المقاومة للأمراض .

المقدمة :

تعتبر الخسائر التى تسببها الأمراض للحاصلات الزراعية فى مقدمة المشاكل التى يحسب لها الإنسان كل حساب مما يؤدى إلى ضياع جانب كبير من المحصول، بل قد يصل الأمر إلى القضاء على النباتات فى بعض الأحيان. وبالرغم من معرفة عدد كبير من المبيدات الفطرية والحشرية للقضاء على الأفات الحشرية فمازالت طريقة التربية للأصناف المقاومة هى أضمن وأحسن وسيلة للمقاومة من الناحية الإقتصادية .

ومن الأمراض التي تسبب قدراً كبيراً من الخسائر أصداء محاصيل الحبوب التى تهدد الإنسان فى غذائه والتى تنتشر فى كل أرجاء الدنيا والتفحمات التى تحدث فى محاصيل الحبوب فى بعض البلدان وفطريات التربة التى تسبب أمراض الذبول ومنها ذبول القطن وذبول الكتان والديدان الثعبانية والتي تصيب الجذور وأجزاء أخرى من النبات وبيئات الأمراض الأخرى التي تحدثها الفطريات والفيروسات، ولا يمكن إنقاذ الحاصلات الزراعية من هذه الأفات إلا بايجاد أصناف

مقاومة لها ، فهناك أصناف مقاومة للصدأ وأخرى مقاومة للتفحمات وثالثة مقاومة للذبول وفطريات التربة وهكذا .

وتعنى المقاومة للمرض فى شقين أحداهما فى النبات من أول إنبات البذرة حتى نضج المحصول والآخر فى الطفيل نفسه وكيف يمكنه أن يُحدث العدوى للنبات، ولا شك أن هناك سلسلة من العمليات الكيميائية تحدث داخل النبات كما أن هناك سلسلة أيضا" من العمليات الكيميائية والفسيولوجية تحدث فى الطفيل لكى يتمكن من غزو العائل والنمو داخلة .

فلو تمكن الإنسان من وقف أى من هذه العمليات لأمكنه الحد من نجاح إصابة وعدم إحداث الضرر فى النبات، فلو تمكن النبات من وضع حد لإنتشار المرض بطريقة ميكانيكية نتيجة لتركيب وراثى فيه أو لو حدث تغير فى التحول الغذائى للنبات بصور لا تمكن الطفيل من التطفل، فإن النبات عند إذن يكتسب صفة المقاومة. لذلك نجد أن المقاومة والإصابة فى النبات وكذلك القدرة على إحداث الإصابة أو الفشل فى إحداثها من جانب الطفيل على النبات كل ذلك يتوقف أساساً على تسلسل العمليات الحيوية فى كل منهما على النحو الذى يحقق حدوث الإصابة وتطورها، وبذلك نجد أن إيجاد المقاومة يتوقف على دراسة كاملة للتحول الغذائى فى كل من العائل والطفيل وكيف يتداخل كل من هاتين الحلقتين ليمكن إحداث أو منع حدوث المرض .

ويساعد على إيجاد حلول لهذه المشاكل التنوع الكبير الذى يوجد فى كل نبات، فهذه الأصناف العديدة من المحاصيل الإقتصادية كالقمح والشعير والأرز والطماطم والتفاح وغيرها تشجع المربى للمقاومة على البحث عن التركيب الوراثى المقاوم للمرض. ويرجع ذلك عادة إلى صفات مورفولوجية فى الصنف أو إلى بعض العمليات الفسيولوجية التى تتلائم مع البيئة التى يعيش فيها الصنف . ولكن قد تسبب المقاومة من إختلافات وثيقة لا يمكن بسهوله إكتشافها بمجرد إستعراض صفات العينات المظهرية بل تحتاج إلى إختبارت بحقن هذه الأصناف صناعيًا بالمرض لمعرفة ما يبديه النبات من المقاومة له أو الإستسلام إليه. وقد توصل المربون للمقاومة لمرض الصدأ الأسود فى القمح والندوة المبكرة للبطاطس لأن أى سلالة من هذين الفطريين كان يمكن إيجاد أصناف مقاومة لها من القمح أو البطاطس ولكن المشكلة ذات حدين فعندما يتمكن المربى من إيجاد الصنف المقاوم فإن الفطر هو الأخر يمكنه أن يكوّن سلالات جديدة بتغيير يحدث فى تركيبه

الوراثي يمكنه من غزو الصنف المقاوم مرة أخرى بشكل أخر لذلك مشكلة تربية الأصناف المقاومة عملية مستمرة لا تتوقف أبدا .

إختراق الطفيل لأنسجة العائل :

يدخل الطفيل العائل بإحدى وسائل ثلاثة :

١- بإختراق البشرة بطريقة مباشرة .

٢- من الفتحات الطبيعية للنبات كالثغور والعديسات .

٣- عن طريق الجروح .

ولكل نوع من الطفيليات طريقته الخاصة في الدخول إلى أنسجة العائل حيث تتداخل جراثيم فطر الصدأ في العائل الثاني لهـا *Berbirus vulgaris* وكـذلك البياض الزغبى في النجيليات من خلال الأدمة، كما تدخل جراثيم التفحم بطريقـة مباشرة من خلال جدر المبايض والأنسجة الابتدائية في بعض الأنواع أو مـن سطوح الأوراق بينما تدخل الجراثيم اليوريدية عند إنباتها فـي القمـح والجـراثيم السابحة zoospores وفى البياض الزغبى في العنب *Plasmopara viticola* من ثغور الورقة أما في حالة هيفات العدوى في فطر *phytophthora infestans* تدخل عن طريق الثغور أو مباشرة بإختراق البشرة .أما الفطريات التي تدخل عن طريق الجروح فمنها فطر *Botrytis cinarea* وفوزاريوم البطاطس المسـبب لحدوث عفن البطاطس الجاف .

دخول الطفيل عن طريق المداخل الطبيعية للنبات :

فى صدأ الساق تنبت الجرثومة اليوريديه على سطح البشرة ثم تنمـو ممتـدة عليها حتى تصل إلى ثغر مفتوح حيث يتضخم طرف الهيفا وتكون ضاغطا وتنمو هيفا من الضاغط هي التي تدخل الثغر المفتوح ثم تكون إنتفاخا في فـراغ الثغـر، يتكون من هذا الإنتفاخ هيفا العدوى وتخترق هذة الهيفا جـدر الخلايـا بواسـطة ممصات وفى داخل الخلايا المصابة تتكون من أوتاد تخترق الخلايا وقد لا تتكـون الضواغط أحيانا كما في حالة تبقع الأوراق في البنجـر حيـث تـدخل الأنبوبـة الجرثومية الثغر دون تكون الضواغط، وتتوقف درجة المقاومة في هذة الحالة على عمل الخلايا الحارثة في الثغر في تنظيم فتح وقفل الثغور كما تتوقف على الظروف

البيئية في الغرفة الهوائية. وتحدث العدوى عن طريق العديسات بأنواع من البكتيريا التي تسبب العفن اللين في الجزر وجرب البطاطس وتؤدى الإصابة بالمرض الأخير إلى تكوين طبقة من الفلين لتحديد المنطقة المصابة وذلك بتكوين مرستيم يكون طبقة من الخلايا الغالقة للعديسة فيما بعد في الأصناف المقاومة ولا تتكون مثل هذه الطبقة في الأصناف المصابة، كما وجد في الأصناف المقاومة أنها ليست مقاومة لكل السلالات مما يدل على أن هناك درجة من التخصص فعملية تكوين هذه الطبقة ليست عملية ميكانيكية بحتة كما يحدث عند حدوث الجروح في النبات مثلا ..

مقاومة الإنتشار داخل العائل ..

بعد دخول الطفيل في العائل تمتد الإصابة في باقى أنسجة العائل بدون ظهور لأعراضها، ولكن يحدث في بعض الحالات إفراز مواد سامة أو أنزيمات تؤدى إلى قتل خلايا العائل فمن المعروف في بعض أنواع البكتيريا أنها تفرز أنزيمات تذيب البكتين وتؤدى إلى تحلل الجدار الخلوي في خلايا العائل كما في حالة بكتيريا العفن اللين في الجزر كما أن فطر *Botrytis sp* المسبب لعفن الأبصال يؤدى إلى قتل الخلايا التي يغزوها الطفيل أو إتلافها بعد وقت قصير من دخول العائل، وعلى العكس من ذلك تمتد الإصابة بالبياض الزغبى في العائل القابل للإصابة دون أن يظهر ضرر مباشر للأنسجة، كما أن كثيرا من الفيروسات يتحملها العائل المصاب دون أن يظهر عليه أي أعراض للمرض وقد يحدث أحيانا أن يحدد العائل المكان الذى إمتدت اليه الإصابة وبذلك يمنع إنتشارها، وهذا التحديد لطبقة عازلة من الفلين منتشرة فى كثير من أمراض البطاطس التى تصيب الدرنات. كما أن للطبقة الإسكلرنشيمية المحيطة بالحزم الوعائية والنطاق الإسكلرنشيمى الموجود حول النطاق الخارجى للساق تحت البشرة عملاً كبيراً فى إنتشار أو تحديد الإصابة فى صدأ الساق فى القمح حيث تؤدى إلى صلابة البشرة التى تمنع من نجاح إنفصال الجراثيم اليوريدية من البثرات. ويسبب دخول الفطر موت الخلايا التى وصل إليها وبموتها يقف إنتشار المرض، لأن الفطر يموت أيضا فى هذه الخلايا وتتكون بذلك بقعاً صفراء تدل على هذه المقاومة وتعرف باسم necrotic area وقد وجد أن مجموعة من الأمراض الفطرية تكون هذه البقع التى تدل على مقاومة الأصناف التى حدث فيها المرض منها الأصداء والبياض الزغبى وغيرها من الأمراض ويؤدى موت الخلايا إلى موت هيفات الفطر فيها أو منع وصول الغذاء اللازم للطفيل مما يؤدى إلى موته .

طبيعة المقاومة للمرض :

يعتبر النبات منيعا Immune للمرض إذا لم يتمكن الفطر أو المسبب من الدخول إلى أنسجة العائل بينما يعتبر النبات مقاومًا Resistant إذا تمكن الطفيل من الدخول ولكن النبات قاوم الفطر بعد ذلك بأن حدد إنتشارة ويتدرج هذا التحديد من درجات عالية من المقاومة إلى أن تصل إلى الإصابة الكاملة. وتتوقف المقاومة على عدد من العوامل الخارجية والداخلية التي تعمل بجانب بعضها لتقليل درجات الإصابة فمن هذة الدرجات فى المقاومة تحديد إنتشار الإصابة وعزل الفطر في المكان الذي دخل فيه أو بتقليل تأثيره الضار للنبات الذي ينشا عن إفراز الطفيل لمواد سامة أو ضارة بالعائل أو يمنع الطفيل من النجاح في التكاثر وإنتاج الجراثيم وبذلك يمنع تكرار حدوث إصابات أخرى من الإصابة الأولى .

إن الخطوة الأولى فى أى تفاعل متوافق بين العائل والكائن الممرض، أو بمعنى آخر ، فى أى إصابة، هى تمييز العائل بواسطة الكائن الممرض و أحيانا العكس يعنى تمييز الكائن الممرض بواسطة العائل وبالتالى فإن غياب عوامل التمييز فى العائل يمكن أن تجعله مقاوم لكائن ممرض معين .

إن أى صفات متوارثه للنبات تشارك فى إتجاه تمركز وعزل الكائن الممرض فى منطقة الدخول و بإتجاه تخفيض التأثير الضار للمواد السامة المنتجه بواسطة الكائن الممرض أو بإتجاه تثبيط تكاثر الكائن الممرض وبذلك تثبيط زيادة إنتشار الكائن الممرض، كل ذلك يشارك فى إتجاه مقاومة النبات للمرض. زيادة على ذلك فإن أى صفة أو صفات متوارثة تمكن صنف معين من استكمال تكشفه ونضجه تحت ظروف لاتناسب تكشف الكائن الممرض، هى أيضا تشارك فى المقاومة (الهروب من المرض) .

إن مساهمة الجينات المرتبطة بالمقاومة فى العائل واحداً يبدو أنها تتألف بشكل أساسى من تزويد الطاقة الوراثية فى النبات لتكشف واحداً أو أكثر من الصفات المورفولوجية أو الفسيولوجية متضمنة (وسائل الدفاع التركيبية والبيوكيميائية). بإستثناء أمراض النبات الفيروسية والفيرويدية التى فيها جينات العائل ممكن تصورها أن تصبح فى مواجهة (وجها لوجه) مع جينات الحامض النووى الفيروسى، إن جينات النباتات المصابة بأنواع أخرى من الكائنات الممرضة يبدو أنها إطلاقا لا تصبح فى إتصال مع جينات الكائن الممرض. وبشكل عام فإنه فى

كل علاقات العائل مع الكائن الممرض متضمنه الفيروسات والفيرويدات فإن تفاعل بين جينات العائل وجينات الكائن الممرض ، يعتقد أنها تدخل عن طريق غير مباشر خلال الجزيئات الكيماوية والعمليات الفسيولوجية المتحكم فيها بواسطة جينات خاصة .

طرز المقاومة لمسبب المرض :

١-المقاومة القصوى

Extreme Resistance

يستخدم مصطلح المقاومة القصوى (أو المناعة Immunity) – عادة – في وصف بعض حالات المقاومة للفيروسات ، حيث يكون النبات مقاوما لجميع سلالات الفيروس حتى ولو أجريت العدوى بطريقة التطعيم. ويبدو أن المقاومة القصوى هي حالة قصوى لفرط الحساسية .

لا تؤدى العدوى بطريقة التطعيم للنباتات ذات المقاومة القصوى -أحيانا- إلى بعض النقط المتحللة كما يمكن عزل أثار من الفيروس منها خاصة من الجذور.

وإذا أجرى تطعيم مزدوج لنبات مصاب بالفيروس، وهذا بدورة مطعم على نبات ثالث سليم ولكنه قابل للإصابة بنفس الفيروس فإنه يمكن عزل الفيروس من النباتين الأول والأخير بينما يندر عزله من القطعة الوسطية التى تسمح فقط- بمرور الفيروس من خلالها دون أن يتكاثر فيها .

ومن أمثلة حالات المقاومة القصوى: مقاومة البطاطس لفيروس x البطاطس التي يتحكم فيها جين واحد Xi ولفيروس A,Y البطاطس اللذين يتحكم فيهما جين واحد آخر حيث نجد في الأجيال الإنعزالية أن النباتات ذات المقاومة القصوى لفيروس Y تكون ذات مقاومة قصوى لفيروس A كذلك .

٢-المقاومة المتينة :

Durable Resistance

تعرف بأنها المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار التي تستمر فعالة في حماية الصنف الحامل لها من المسبب المرضى أو الآفة مع استمرار زراعة ذلك الصنف في بيئة مناسبة لهذا المسبب المرضى أو تلك الآفة. وجدير بالذكر أن

المقاومة ذات القدرة العالية علي الإستمرار قد تكون مقاومة بسيطة أو يتحكم فيهـا عدد قليل أو كبير من الجينات .

ومن أمثلة المقاومة ذات القدرة العالية علي الإسـتمرار Durable Resistance ما يلي :

١- مقاومة بعض أصناف الكرنب لمرض الإصفرار (الذبول الفيـوزارى) الـذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum f .sp.conglutinans*

٢- مقاومة الخس لفيروس موازيك الخس ،و هي مقاومة بسيطة .

٣-تحمل الإصابة :

Tolerance

فى حالة عدم توفر المقاومة فى الأصناف التجارية يمكن الإستفادة من النباتات القادرة على تحمل الإصابة فى الزراعة خاصة التى تتحمل الإصـابة بـالأمراض الفيروسية إلا أن هذه الأصناف القادرة على تحمـل الإصـابة تصـاب بالمسـبب المرضى الذي ينتشر بأعداد هائلة في مساحات كبيرة خاصة عندما يكـون تكـاثر المحصول خضريا وبذا تصبح هذة النباتات مصدرا للإصابة لكل مـن الاصـناف الأخرى التى تكون أقل تحملاً للاصابة و تصاب بنفس المسبب المرضى. يترتـب على ذلك وجود أعداد من النباتات المصابة، تعطى فرصة لظهور طفرات جديـدة من المسبب المرضى قد تكون أكثر تأثيراً من السلالة المنتشرة بالفعل. وقد تـؤدى زراعة الأصناف التى تتحمل الإصابة إلى إصابتها بأمراض خطيرة عند إصـابتها بالفيروس، ففي الطماطم مثلا ..لا تحدث الإصابة بأي من فيروسى تبرقش الدخان أو إكس البطاطس أعراضاً شديدة أو نقصاً كبيراً في المحصـول و لكـن تواجـد الفيروسين معا يصيب الطماطم بمرض التخطيط المزدوج Double streak و هـو مرض خطير يقضى علي محصول الطماطم .و تزيد مخاطر هذا المرض عنـدما تكون أصناف الطماطم المزروعة قادرة علي تحمل الإصـابة بفيـروس تبـرقش الدخان .

إن المقاومة والقدرة علي تحمل الإصابة خاصيتان مختلفتان تورثان مستقلتين فبينما تعمل المقاومة على إبقاء الطفيل خارج النبات .. فإن القـدرة علـي تحمـل

الإصابة تعمل علي الحد من تأثير الطفيل علي النبات بعد إصابته له ويمكن الاستفادة منهما اذا وجدتا فى محصول واحد .

٤-فرط الحساسية :

Hypersensitivity

تؤدى إصابة الطفيل للنبات العائل إلى موت جميع الخلايا التى أصابها الطفيل والخلايا المجاورة لها وبذا ينعزل الطفيل ويمنع إنتشاره فى بقية أجزاء النبات.حساسية العائل فى هذه الحالة تجعل النبات مقاوم لأن العائل منع أو حدد إنتشار الطفيل تحت ظروف الحقل ، ولذا فإنها تسمى مناعة الحقلField Immunity

تورث فرط الحساسية عادة كصفة بسيطة . ومن أمثلتها حالات المقاومة لفيروسات البطاطسA، X ,Yc , Xb التي تتحكم فيها الجينات السائدة Nx, Nc,Nb ,Na علي التوالي ، علما بأن فيروس البطاطس XB هو سلالة من فيروس البطاطس X و فيروس البطاطس Yc هو سلالة قليلة الأهمية من الفيروس الهام PVY الذي يتوفر منه أربع مجموعات من السلالات تأخذ الأرقام ١و٢و٣و٤ ،فالنباتات التي لا تحمل أيا من الجينين السائدين تكون قابلة للإصابة بجميع السلالات ، بينما تكون النباتات الحاملة لكلا الجينين السائدين قابلة للإصابة بمجموعة السلالات رقم ٤ فقط ، و ذات حساسية مفرطة لمجموعات السلالات الثلاث الأخرى ... و هكذا كما هو مبين بالجدول رقم ٢ .

جدول رقم ٢ : العلاقة بين جينات فرط الحساسية

ومجموعات سلالات فيروس X البطاطس (PVX)

الصنف	التركيب الوراثي	مجموعة السلالات (أ)			
		١	٢	٣	٤
Arran Banner	nxnb	S	S	S	S
Epicure	Nxnb	R	S	R	S
Arran Victory	nxNb	R	R	S	S
Ceaigs Defiance	NxNb	R	R	R	S

R مفرط في الحساسية (مناعة حقلية)، S قابل للإصابة .

٥-المقاومة السيتوبلازمية :

Cytoplasmic Resistance

تتحكم في المقاومة لبعض مسببات الأمراض عوامل سيتوبلازمية، أى أنها تورث عن طريق السيتوبلازم ومنها ما يلى:

الإصابة بفيروس X البطاطس فى الجنس *Capsicum* :

تحدث العدوى بفيروس X البطاطس إصابة جهازية بالتبرقش في النوع *C.annuum* بينما تكون الأعراض على صورة بقع موضعية متحللة فى النوع *C.pendulum* و تكون أعراض الإصابة في الجيل الأول للهجين بينهما على صورة تبرقش جهازى عند إستخدام *C. annuum* كأم في التهجين بينما تكون على صورة بقع موضعية عند استخدام *C.pendulum* كأم .

ولا يمكن التعرف على حالات الوراثة السيتوبلازمية إلا بعد إجراء التلقيحات العكسية ودراستها .

♀ *C.pendulum* X *C.annuum* ♂	♀ *C.annuum* X *C.pendulum* ♂
⇩	⇩
F_1	F_1
بقع موضعية	تبرقش جهازى

٦-المقاومة المستحثة كأحد الاتجاهات الحديثة فى مقاومة الأمراض النباتية تحت ظروف الزراعة النظيفة :

إتجهت الأنظار فى السنوات القليلة الماضية إلى إستخدام بعض الطرق الجديدة الآمنة فى مقاومة الأمراض النباتية ومن هذه الطرق إستخدام المقاومة المستحثة فى مقاومة الكثير من أمراض النبات فقد تم إستخدام عدد من المستحثات من أصل كيماوى وبيولوجى فى مقاومة بعض الأمراض النباتية التى تصيب الجذور أو المجموع الخضرى لأهم المحاصيل الاقتصادية وتعتبر المقاومة المستحثة أحد أهم الإتجاهات الحديثة فى مقاومة الأمراض النباتية فى الزراعات النظيفة حيث تصاب

المحاصيل الإقتصادية التى تزرع فى جمهورية مصر العربية بالعديد من الأمراض النباتية وتعتبر المبيدات الكيماوية هى الحل الأساسى لمقاومة هذه الأمراض النباتية.

تعريف المقاومة المستحثة :

هى دفع النبات إلى تكوين المواد المسؤولة عن المقاومة قبل حدوث الإصـــابة وسرعة رد الفعل عند حدوث الإصابة .

مميزات المقاومة المستحثة :

١- غير ضارة بالنسبة للإنسان والبيئة .

٢- غير متخصصة فهى تفيد ضد الأمراض الفيروسية والفطرية والبكتيرية .

٣- ثابتة لأنها تعتمد على نشاط العديد من المواضع الحيوية..

٤- ذات تأثير ممتد فقد تكفى معاملة واحدة أو إثنتان فى بداية عمر النبات لكـــى تحمى النبات طوال فترة حياته .

٥- ذات تأثيرات إيجابية بالنسبة للنمو الخضرى والمحصول .

أنواع المستحثات :

١-المستحثات الكيماوية ٢- المستحثات البيولوجية ٣- المستحثات الطبيعية

.

آليات المقاومة المستحثة :

تكوين الإنزيمات المسؤولة عن المقاومة :

مثل : الشيتينيز – الجلوكانيز – البيروكسيديز . حيث أنه من المعروف أن المكون الأساسى لجدر خلايا الفطريات تتكون من الشيتين أو الجلوكان كما يلى :

١- العائلة الأسكية البازيدية الناقصة يتكون من الشيتين والجلوكان .

٢- العائلة البيضية يتكون من الجلوكان و السيلولوز .

٣- العائلة الزيجية يتكون من الشيتين و الشيتوزان .

٤- اما البيروكسيديز فهو يدخل فى تكوين لجنين جدر الخلايا النباتية .

تكوين الفيتوالكسين :

- وهى مواد سامة تتكون من النبات نتيجة الإصابة .
- توجد فى النبات المصاب ولا توجد فى النبات السليم .
- يختلف النبات المقاوم عن القابل للإصابة فى سرعة تكوينها والكمية المتكونة منها .

تكوين المواد الفينولية :

دور المواد الفينولية فى المقاومة :

١- تتحد الفينولات مع البروتينات وتكون التانينات وهى سامة للمسببات المرضية .

٢- حرمان الفطر من البروتينات .

٣- فصل الاكسدة عن الفسفرة وبالتالى حرمان الفطر من الطاقة .

٤- تثبيط الأنزيمات المفرزة من الفطر .

٥- عند أكسدة المواد الفينولية تتحول إلى كيتون وهى سامة للفطر .

٦- تدخل فى تكوين اللجنين .

دور اللجنين فى المقاومة :

١- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد اختراق الخلايا .

٢- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد أنزيمات المسبب المرضى والتوكسينات .

٣- عمليات تكون اللجنين سامة للممرضات .

٤- عند إختراق هيفا الفطر يحدث لها لجننة .

٥- تكوين البروتينات المسؤولة عن المقاومة PR – Protein .

الإشارة : Signal

نتيجة الحث على المقاومة وقبل تكون المواد المسؤولة عن المقاومة يتكون فى النبات المعامل مواد تسمى الإشارة Signal وهى المسؤولة عن تحفيز النبات لإنتاج المواد ضد الممرضات .

١- إشارة كهربائية.

٢- جرح الخلية .

٣- تكوين مواد للتنبيه مثل حامض السالسليك والكالسيوم .

أمثلة على إستخدام المقاومة المستحثة بنجاح فى مقاومة العديد من الأمراض النباتية فى مختلف أنحاء العالم مثل :

١- مقاومة مرض العفن الرمادى فى الدخان .

٢- مقاومة مرض الذبول فى الطماطم .

٣- مقاومة مرض البياض الدقيقى فى الخيار .

٤- مقاومة مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس .

استخدام المقاومة المستحثة فى مقاومة العديد من الأمراض النباتية فى مصر :

- مقاومة مرض البياض الدقيقى فى الشعير .
- مقاومة مرض تبقعات الفول البلدى .
- مقاومة مرض الذبول فى البطيخ .
- مقاومة أمراض البياض الزغبى و البياض الدقيقى فى الخيار .
- مقاومة مرض اللفحة المتأخرة والمبكرة فى نباتات البطاطس .
- مقاومة مرض أعفان الجذور فى نباتات البسلة .
- مقاومة مرض أعفان الجذور فى نباتات الترمس .
- مقاومة أمراض المجموع الخضرى فى نباتات الكوسة .

عدد الجينات التى تتحكم فى مقاومة الأمراض :

نوضح فيما يلي أمثلة لحالات مختلفة من وراثة المقاومة للأمراض من حيث عدد الجينات التي تتحكم في المقاومة .

أولا : حالات مقاومة يتحكم في وراثتها جين واحد :

من أمثلة حالات المقاومة للأمراض التي يتحكم في وراثتها جين واحد ما يلي :

العائل	المرض	الطفيل	المقاومة
الخيار	الجرب	*Chiadosoporium cucumerium*	سائدة
الخس	البياض الذقيقي	*Erysiphi cichoracearum*	سائدة
البسلة	الذبول الفيوزاري	*Fusarium oxysporum F.pisi*	سائدة
البسلة	البياض الدقيقي	*Erysipihi pisi*	متنحية
الفلفل	تبرقش الفلفل	*Pepper Mosaic Virus*	سائدة
السبانخ	البياض الزغبي	*Peronospora effusa*	سائدة
السبانخ	التبرقش	*Cucumber mosaic virus*	سائدة
الطماطم	ذبول فيرتسيلليم	*Verticillim albo-atrum*	سائدة
الطماطم	الذبول الفيوزاري	*F. oxysporum F.lycopersic*	سائدة

ثانيا: حالات مقاومة يتحكم في وراثتها زوجان من الجينات :

من أمثلة حالات المقاومة التي يتحكم في وراثتها زوجان من الجينات ما يلى :

العائل	المرض	الطفيل	المقاومة
البصل	البياض الزغبي	*Peronospora destructor*	الجينان سائدان
الفاصوليا	فيروس موازيك الفاصوليا العادي	*Common Bean Mosaic Virus*	الجينان متنحيان a,s

ثالثا: حالات مقاومة يتحكم في وراثتها ثلاثة أزواج من الجينات :

من أمثلة حالات المقاومة التي يتحكم فى وراثتها ثلاثة أزواج من الجينات ما يلي :

العائل	المرض	الطفيل	المقاومة
البصل	الإسوداد	*Colletrichum circinans*	تؤثر فيها السيادة والتفوق
الخيار	التبرقش مرحلة الأوراق الفلقية	*Cucumber Mosaic virus*	الجينات مكملة لبعضها
الفاصوليا	فيروس موازيك الفاصوليا العادي	*CBMV*	الجينات I,a,s

رابعا: حالات مقاومة يتحكم في وراثتها أكثر من ثلاثة أزواج من الجينات

من أمثلة حالات المقاومة التى يتحكم في وراثتها أكثر من ثلاثة أزواج من الجينات ما يلي :

العائل	المرض	الطفيل	المقاومة
الفاصوليا	عفن الجذر الفيوزاري	*F. Oxysporum F. solanis*	الجينات مكملة لبعضها
الكرنب	الإصفرار	*F. oxysporum F. conglutinans*	طراز B
الطماطم	تلطخ الأوراق	*Fulvia fulva*	جينات رئيسية

خامسا: حالات تتنوع فيها وراثة المقاومة بين مختلف المصادر

من الحالات القليلة التي تختلف فيها وراثة المقاومة ما بين زوج واحد، وزوجين، وثلاثة أزواج من الجينات المقاومة لفيروس موازيك الفاصوليا العادى Common Bean Virus في الفاصوليا كما يلي :

١- يتحكم في المقاومة البسيطة جين واحد متنح يأخذ الرمز a .

٢- تتوفر مقاومة أخرى ضد بعض سلالات الفيروس، ويتحكم فيها جينان متنحيان يأخذان الرمزين s,a كما في الأصناف : Michelite، Sanilac وسلالات Great Northern..

٣- تتوفر مقاومة ثالثة توجد في معظم أصناف الفاصوليا الخضراء ويتحكم فيها جين سائد I مثبط لتأثير الجينين A,S الخاصين بالقابلية للإصابة، وبذا... يصبح الصنف مقاوما . و تعد المقاومة فعالة ضد جميع سلالات الفيروس. وجدير بالذكر أن المقاومة فى الحالتين الأولى و الثانية تكون متنحية بينما تظهر المقاومة في الحالة الثالثة سائدة لأن الجين السائد I يظهر تأثيرة حتى وإن لم يحمل النبات جينات المقاومة المتنحية a.s .

خصائص وراثة المقاومة للأمراض :

تتميز وراثة المقاومة لبعض الأمراض بخصائص معينة، ومن تلك الخصائص ما يلي :

١- إرتباط المقاومة بصفة نباتية ظاهرة :

تعتبر المقاومة للفطر *Colletrichum circinans* المسبب لمرض الإسوداد أو التهبب Smudge فى البصل من أبرز الأمثلة على إرتباط المقاومة بصفة مورفولوجية واضحة، كما تعد مثالا للمقاومة التي يتحكم فيها ثلاثة جينات مستقلة يحدث بينها تفاعلات غير آليلية، وللمقامة التي ترجع إلى وجود مركبات كيميائية معينة بالنبات قبل حدوث الإصابة ففي هذا المرض ..ترتبط المقاومة للفطر بلون الحراشيف الخارجية للأبصال، حيث تكون المقاومة عالية فى الأبصال الحمراء و الصفراء، ومتوسطة فى الأبصال الوردية و الكريمية اللون، بينما تكون الأبصال البيضاء قابلة للإصابة . و يتحكم في وراثة كلا الصفتين ثلاثة أزواج من الجينات كما يلي :

التركيب الوراثي	لون الأبصال	المقاومة
R-C-ii	حمراء	عالية
rr-C-ii	صفراء	عالية
R-C-Ji	وردية	متوسطة
rr-C-Ii	كريمة	متوسطة
R-C-II	بيضاء	لا توجد
rr-C-II	بيضاء	لا توجد
R-cc-I-	بيضاء	لا توجد
R-ccii	بيضاء	لا توجد
rr cc Ii	بيضاء	لا توجد
rr cc ii	بيضاء	لا توجد

وقد أوضح CLARKE في عام ١٩٤٤ ضرورة وجود العامل الوراثى السائد (C) لظهور أى تلوين بالأبصال اللون . و تكون الأبصال حمراء اللون عن وجود الجنين C,R بها، و تصبح الأبصال صفراء اللون عندما يوجد الآليل المتنحى r بحالة أصيلة مع الجين السائد C.

كذلك يوجد جين ثالث (I) ذو سيادة غير تامة، و يؤثر على لون الأبصال كما يلى :

١- تكون الأبصال بيضاء اللون عند وجوده بحالة سائدة أصيلة ،أياً كانت الجينات الأخرى الموجودة معه .

٢- عند وجودة بحالة متنحية أصيلة....يتحدد اللون بالجينين C,R كما سبق بيانه .

٣- أما عند وجودة بحالة خليطه .. فإن اللون يكون ورديا في وجود الجين C,R بحالة سائدة، وكريمياً عند وجود الجين C بحالة سائدة و الجين R بحالة متنحية أصيلة rr .

وتبين أن طبيعة المقاومة للمرض تعتمد على أن الحراشيف الخارجية للبصل تحتوى على مادتين فينوليتين قابلتين للذوبان في الماء هما :الكــايتكول Catechol وحامض البروتوكايتكوك Protocatechuic Acid و هما سامتان للفطــر المســبب لمرض الإسوداد .تذوب المادتان في الماء الأرضى حول البصلة، وبــذا تمنعــان الفطر من إصابة الأبصال .

وقد وجد أن الأوراق المتشحمة الداخلية لا تكون مقاومة للفطــر إذا أُزيلــت الحراشيف الخارجية للبصلة ويرجع ذلك إلى أن المواد السامة للفطــر لا تنتشــر بسهولة في الأوراق المتشحمة الداخلية كما يحدث في الحراشيف الميتة الخارجية .

٢-التعدد الأليلى لجينات المقاومة :

تعتبر المقاومة للفطر *Melampsora lini* المسبب لمرض الصدأ فــي الكتــان مثالا لحالة التعدد الآليلى لجينات المقاومة للأمراض، فقد وجد أن المقاومــة لهــذا المرض يتحكم فيها عدة أليلات في خمسة مواقع جينية كما يلي :

الموقع	عدد آليات المقاومة
K	1
L	12
M	6
N	3
P	4

ومن الطبيعى أن تعدد أليلات المقاومة في نفس الموقع الجينى يحد من العــدد الكلى لعدد جينات المقاومة التي يمكن إدخالها فى الصنف الواحد .

الخلاصة :

يصاب النبات بكائنات مختلفة تدخل عن طريق البشرة أو الثغور أو العديســات أو الجروح ، وقد توجد بعض الموانع مثل إفرازات سامة من النبات أو تكوين طبقة فلين، ويعتبر النبات منيعا إذا لم يتمكن مسبب المرض من دخول النبات أو يعتبــر مقاوم إذا تمكن الطفيل من الدخول ولكن النبات حدد إنتشــارة ، وتختلــف طــرز

المقاومة وهى مقاومة قصوى، مقاومة ذات القدرة العالية على الإستمرار (مقاومة متينة) تحمل الإصابة، فرط الحساسية، مقاومة سيتوبلازمية ومقاومة مستحثة .

كما أن من خصائص المقاومة هى إرتباطها بصفة نباتية ظاهرة مثل إرتباط لون الأوراق الحرشفية فى البصل بصفة المقاومة لفطر العفن الأسود فى الأبصال والتعدد الأليلى من ناحية أخرى فإن المقاومة يتحكم فيها عدد من الجينات .

الأسئلة :

١- إشرح كيف تحدث الإصابة بالكائن الممرض ؟

٢- كيف يقلل النبات من الإصابة بالطفيل ؟

٣- ما هى عدد الجينات التى تتحكم فى وراثة المقاومة، أذكر مثال ؟

٤- لوراثة المقاومة عدة خصائص إشرح إحداهما ؟

٥- عرف التعدد الأليلى مع ذكر مثال ؟

٦- أكتب نبذة مختصرة عن المقاومة المستحثة ؟

أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- تحدث العدوى فى النبات بالفيروس من خلال العديسات .

ب- الإصابة بالفطر تحدث من خلال الثغور .

ت- المقاومة القصوى هى المناعة للنبات .

ث- فرط الحساسية هى مناعة الحقل .

ج- المقاومة السيتوبلازمية هى مقاومة من النواة والسيتوبلازم .

ح- المقاومة المستحثة يتحكم فيها عدد كبير من العوامل .

خ- طبيعة المقاومة فى البصل ترجع إلى وجود مادة الأنثوثيانين فى الأوراق الحرشفية .

د- يعتبر النبات منيعا اذا قاوم المسبب المرضي .

الفصل الثاني

علاقة الوراثة بأمراض النبات

الأهداف : من المتوقع في نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يفهم العلاقة الجينية بين المسبب المرضي والعائل النباتي والسبب الوراثي وراء التخصص العائلي للمسببات المرضية .

٢- يستوعب السلالات الفسيولوجية من المسببات المرضية المختلفة وطرق نشأتها العامة والخاصة .

٣- يتعرف على نظرية الجين للجين فى تخصص الإصابة بالمسببات المرضية .

٤- توضيح مدى خطورة جينات الضراوة فى المسببات المرضية فى كسر صفات المقاومة فى العائل النباتي .

٥- تحديد العوامل التى تحدد بداية وتكشف المرض .

٦- يدرك السبب فى أن القليل من الكائنات الممرضة التى تكون قادرة على مهاجمة عدة أنواع يكون بسبب إما أنها تمتلك عدة جينات متنوعة الشدة أو بسبب أن جينات الشدة ذات مدى تأثير واسع إلى حد ما .

٧- يفهم دور Flor كمؤسس لنظرية الجين للجين التى توصل إليها فى عام ١٩٤٢ من دراساته على المقاومة للفطر *Melampsora lini* المسبب لصدأ الكتان .

٨- يستعرض كيفية حدوث التوازن بين كل من البطاطس كعائل نباتي والفطر المسبب للندوة المتأخرة فى ظل ظهور المرض بحالة وبائية .

٩- يتعرف على دور Russel , 1972 فى توضيح مقاومة بنجر السكر للفطر *Peronospora farinosa f. sp. Betae* المسبب لمرض البياض الزغبي التى ترجع إلى مقاومة النبات لكل من : إنبات الجراثيم الكونيدية على سطح

الأوراق، عملية العدوى ، نمو الفطر فى أنسجة الورقة ، عملية التجرثم ، هـذا فضلا عن تحمل النبات للإصابة والذى تتحكم فيه عوامل كمية .

١٠- يدرك تقسيم Abdallah & Hermsen , 1971 للمقاومة الأفقية إلى طـرازين ، أحدهما يرجع إلى جينات غير متخصصة ، والآخر يتحكم فيه جينات متعـددة متخصصة فى المقاومة ولكنها لا تكون متخصصة ضد سلالات من المسـبب المرضي ، ويعتقد أن هذا الطراز من المقاومة ينشأ فى عشائر العائل التى تنمو فى المناطق التى يتواجد فيها الطفيل بحالة مستوطنة .

١١- يدرك دور Van der Plank كمؤسس لمدرسة المقاومة الرأسـية والمقاومـة الأفقية ، والذي ربط بين هذين النوعين من المقاومة وبين سرعة تكاثر الطفيل وانتشار المرض فى النباتات المزروعة ، وكذلك مع سرعة ظهـور سـلالات جديدة من الطفيل وفقد المقاومة .

١٢- يستوعب أنه تبعا لنظرية Van der Plank فإن المقاومة تكون رأسية عنـدما يصبح الصنف مقاوما لسلالة أو لعدد محدود من سلالات الطفيل ، بينما تكـون المقاومة أفقية عندما يكون الصنف مقاوما بنفس الدرجة لجميع سلالات الطفيل.

مقدمة :

المرض هو حالة فسيولوجية غير طبيعية ، يتعرض أثناءها النبـات لمعانـاة مستمرة من جراء تطفل أحد المسببات المرضية عليه ، ويستبعد هذا التعريف كـل الحالات غير الطبيعية التى لا تحدثها المسببات المرضية ، سواء كانـت وراثيـة المنشأ ، أم ترجع لأسباب فسيولوجية ، وتعرف الحالات الأخيرة باسـم العيـوب الفسيولوجية وهى غير معدية بطبيعة الحال .

المرض المتوطن Endemic disease : هو المرض الذى يوجد بصورة دائمة فى منطقة معينة على أنواع نباتية معينة وفى مستوى معين لا يتغير .

المرض النباتي الوبائي Epiphytotic disease : هو المرض الذي يظهـر علـى النبات بحالة شديدة فى عشيرة من العائل بسبب حدوث زيادة كبيرة طارئـة فـى عشيرة الطفيل ، لكن مصطلح المرض الوبائي Epidemic disease يستخدم للدلالـة على أمراض الإنسان والحيوان .

العائل والطفيل :

الطفيليات الإجبارية Obligate parasites : هى الطفيليات التى لا يمكنها النمو رميا فى الظروف الطبيعية .

الطفيليات الإختيارية Faculative parasites : يستخدم هذا المصطلح لوصف الكائنات الممرضة التى تنمو رميا بصورة أساسية ولكنها تصبح متطفلة فى ظروف خاصة .

العائل Host : هو الكائن الحى الذى يأوى الطفيل ويمده بالغذاء اللازم لنموه وتكاثره ، وقد يستخدم مصطلح عائل للدلالة على نبات واحد أو عشيرة من النباتات أو مرتبة تقسيمية معينة ، وفى علم النيماتولوجي لا يعد النبات عائلا إلا إذا سمح بتكاثر النيماتودا التى أصابته .

المسبب المرضي Pathogen : هو الكائن القادر على إحداث المرض فى عائل معين أو فى مجموعة من العوائل .

القدرة على الإصابة Pathogenicity : يعنى بهذا المصطلح قدرة المسبب المرضي، وقد توصف هذه القدرة بنوعية المقاومة التى يمكنها التغلب عليه فنجد مثلا Horizontal pathogenicity , Vertical pathogenicity .

يقابل مصطلح العائل القابل للإصابة Sucept (وهى تتناسب عكسيا مع المقاومة ويقدر كلاهما على مقياس واحد ، أما المقاومة فهى قدرة العائل على الحد من نمو وانتشار الطفيل ، ويعنى بهذا المصطلح فى علم النيماتولوجي اختراق أعداد قليلة من اليرقات حتى فى وجود أعداد كبيرة من اليرقات وتوفر الظروف المناسبة للإصابة) مصطلح المسبب المرضي Pathogen بينما يقابل العائل Host الطفيل Parasite .

غير عائل Non - host : يستخدم هذا المصطلح فى علم النيماتولوجي لوصف الحالات التى لا يمكن فيها للنيماتودا أن تتكاثر على النبات ، سواء كانت النباتات منيعة Immune أم قابلة للإصابة Susceptible to infection ،علما بأن مصطلح infection فى علم النياتولوجي يعنى به مجرد اختراق اليرقة لأنسجة العائل .

نظرية الجين للجين :

Gene for gene theory :

تنص هذه النظرية على أن كل جين فى العائل يتحكم فى استجابته للمسبب المرضي ، يقابله جين آخر فى المسبب المرضي يتحكم فى قدرته على إصابته للعائل ، ولا يمكن التعرف على أى جين فى العائل أو فى المسبب المرضي إلا فى وجود الجين المناظر له . ويعد Flor هو مؤسس هذه النظرية التى توصل إليها فى عام ١٩٤٢ من دراساته على المقاومة للفطر *Melampsora lini* المسبب لصدأ الكتان ولقد أثبتت فكرة جين لكل جين أولا فى حاله الكتان ولكن تبين حدوثها عمليا فى أصداء أخرى وفى أمراض أخرى ناتجة عن مسببات مختلفة ، وقد تبين أنه فى كل هذه الأمراض عندما يكون الصنف مقاوما للكائن الممرض كنتيجة لـ ١ ، ٢ ، ٣ جينات مقاومه فإن الكائن الممرض الذى يمكن أن يهاجمه يحتوي أيضا على ١ ، ٢ ، ٣ جينات لشدة الاصابة بالترتيب مع جينات العائل . يمكن الكشف عن كل جين فى العائل وتعريفه فقط بواسطة الجين المطابق له فى الكائن الممرض والعكس بالعكس. بشكل عام فى العوائل فإن جينات المقاومة تكون سائدة R بينما جينات القابلية للإصابة تكون متنحية ، ومن ناحية أخرى ففى الكائن الممرض جينات عدم القدرة على الإصابة تكون عادة سائدة (A) بينما جينات الشدة تكون متنحية (a) . وبالتالى عندما يكون هناك صنفان من النبات أحدهما يحمل جين للمقاومة R ، على هذا فإن الاتحادات الجينية (جدول ٣) يمكن أن تكون كالآتى :

جدول رقم ٣ : التفاعل بين جينات المقاومة أو القابلية للإصابة فى النبات و جينات الشدة أو عدم الشدة فى الكائن الممرض .

عمليه ذات جين واحد	جينات المقاومة أو القابلية للإصابة فى النبات		جينات الشدة أو عدم الشدة فى الكائن الممرض
	قابلية للإصابة (r)	مقاومة للإصابة (R)	
	Ar (+)	AR (–)	عدم الشدة A سائدة
	ar (+)	aR (+)	الشدة a متنحية

(–) = عدم التوافق فى التفاعل و بالتالى لا يوجد إصابة (مقاومة).

(+) = التوافق فى التفاعل و تحدث إصابة (قابلية للإصابة) .

ومن الاحتمالات الأربعة لتفاعلات الجينات احتمال واحد فقط AR يكون مقاوماً أما باقى الاحتمالات الأربعة فهى القابلية للإصابة والتي تكون كالأتى :

التركيب Ar : تحدث الإصابة فيه بسبب أن العائل يفتقر إلى الجينات المقاومة R .

التركيب aR : تحدث الإصابة بسبب أن الكائن الممرض يمتلك جين الشدة a الذى يهاجم بشكل متخصص هذا الجين المعين للمقاومة A فى العائل .

التركيب ar : تحدث الإصابة بسبب أن العائل يحمل جين القابلية للإصابه r والكائن الممرض يحمل جين الشدة a .

مثال آخر : عندما يمتلك الصنف النباتى ٢ أو أكثر من الجينات المقاومة R1, R2 ضد كائن ممرض يمتلك ٢ أو أكثر من جينات الشدة a1, a2 فإن الاتحادات الجينية الجديدة وأنواع تفاعلات المرض بين الكائن الممرض والعائل (جدول ٤) تكون كالآتى :

جدول رقم ٤ : الاتحادات الجينية الجديدة وأنواع التفاعلات بين الكائن الممرض والعائل فى حالة وجود جينين للمقاومة ضد كائن ممرض يمتلك جينين لشدة الإصابة .

الكائن الممرض	النباتات			
	R_1R_2	R_1r_2	r_1R_2	r_1r_2
A_1A_2	−	−	−	+
A_1a_2	−	−	+	+
a_1A_2	−	+	−	+
a_1a_2	+	+	+	+

ويوضح هذا الجدول النقاط الآتية :

- النباتات القابلة للإصابة r_1r_2 التى تفتقد جينات المقاومة هوجمت بجميع سلالات الكائن الممرض حتى تلك التى لا تمتلك جينات متخصصة للشدة A_1A_2 .

- سلالات الكائن الممرض أو أفراده التى تحمل جينات الشدة a_1, a_2 لكل جين من جينات المقاومة للعائل R_1, R_2 تستطيع أن تصيب جميع النباتات التى تعمل معها اتحادات من هذه الجينات (R_1r_2, r_1R_2 R_1R_2) .
- عندما يمتلك الكائن الممرض واحد أو اثنين من جينات الشدة a_1 أو a_2 عندئـذ يستطيع إصابة النباتات التى تمتلك الجين المطابق للمقاومة R_1 أو R_2 بالترتيب ، ولكن ليست النباتات التى تمتلك جين للمقاومة يختلف عن الجين المتطابق للشدة (مثلا الكائن الممرض الذى له الجينات A_1a_2 يصيب النباتات ذات الجينـات r_1R_2 ولكن لا يصيب النباتات R_1r_2 بسبب أن a_2 تستطيع أن تهـاجم R_2 لكـن لا تستطيع أن تهاجم R_1) .

لقد ذكرت فكرة جين لكل جين فقط فى النباتات ذات المقاومة وحيـدة الجـين أو المقاومة قليلة الجينات فى بعض الأمراض . ولقد طبق مربوا النبات هذه الفكرة فى أعمالهم التى دمجوا فيها جينات جديدة مقاومه فى صنف مرغوب والذى يصبح قابلا للإصابة بسلالة جديدة من الكائن الممرض (جدول ٥) .

جدول رقم ٥ : يوضح الدراسات الأولية التى أجراهـا Flor أن المقاومـة لصـدأ الكتان يتحكم فيها ٢٥ أليلا فى خمسة مواقع جينية هى كما يلي :

الموقع	عدد أليلات المقاومة	الأليلات السائدة	أليل القابلية للإصابة
K	١	K	k
L	١١	L to L_{10}	l
M	٦	M to M_5	m
N	٣	N to N_2	n
P	٤	P to P_3	p

وتجدر الإشارة إلى أن أى صنف ثنائي التضاعف لا يمكن أن يكون أصيلا فى أكثر من خمسة أزواج من جينات المقاومة ، وبناء على نتائج دراسات Flor ، فقد اقترح أن جينات الضراوة فى المسبب المرضـي تكـون دائمـا متنحيـة ، إلا أن

الدراسات اللاحقة على مسببات مرضية أخرى أوضحت أن الضراوة يمكن أن تكون أحيانا سائدة ، وعندما يكون المسبب المرضي أحاديا فى طوره المتطفل كما فى معظم الفطريات الزقية على سبيل المثال فإن السيادة والتنحى لا يمكن ظهورهما، وقد وجد أن نظرية الجين للجين تنطبق على عديد من الحالات المرضية التى تتباين مسبباتها ما بين الفطريات ، والبكتيريا ، والفيروسات ، والنيماتودا ، والحشرات ، والنباتات المتطفلة . وأغلب الحالات التى تنطبق عليها النظرية تكون فيها المقاومة بسيطة ، أو يتحكم فيها عدد محدود من الجينات ، ولكن توجد حالات قليلة ذات مقاومة كمية . وتبعا لنظرية الجين للجين فإن قدرة الطفيل على إصابة صنف ما تتوقف على احتوائه على جين للضراوة يقابل أى جين للمقاومة فى العائل، ويكون موجها ضده ، فأى صنف يحمل عامل المقاومة R_1 لا يصاب إلا بسلالة أو سلالات الفطر التى تحمل عامل الضراوة .

أنواع المقاومة النباتية ضد الكائنات الممرضة :

يعد Van der Plank هو مؤسس هذه المدرسة فى دراسة مشكلة وراثة المقاومة للأمراض ، وقد استعان بنتائج الأبحاث المنشورة عن مقاومة الأمراض فى النباتات وبالحقائق المعروفة عن الكائنات المسببة للأمراض النباتية فى تطوير نظريته عن المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية ، وقد ربط Van der Plank بين هذين النوعين من المقاومة وبين سرعة تكاثر الطفيل وانتشار المرض فى النباتات المزروعة ، وكذلك مع سرعة ظهور سلالات جديدة من الطفيل وفقد المقاومة . وتبعا لهذه النظرية فإن المقاومة تكون رأسية عندما يصبح الصنف مقاوما لسلالة أو لعدد محدود من سلالات الطفيل ، بينما تكون المقاومة أفقية عندما يكون الصنف مقاوما بنفس الدرجة لجميع سلالات الطفيل ، وتتراوح مستويات المقاومة الأفقية بين مستوى أفضل بقليل من القابلية للإصابة على مستوى أدنى بقليل من المقاومة الرأسية . وقد ربط Van der Plank بين هذين النوعين من المقاومة وبين سرعة تكاثر الطفيل وانتشار المرض فى النباتات المزروعة ، وكذلك مع سرعة ظهور سلالات جديدة من الطفيل وفقد المقاومة . وتجدر الإشارة إلى أن أى صنف قد يخلو من المقاومة الرأسية ، إلا أنه لا يعقل أن يخلو تماما من المقاومة الأفقية ، فلا توجد المقاومة الرأسية بمفردها أبدا ، ولا يمكن للفرد أن يتخيل انعدام المقاومة الأفقية فى صنف ما ، لأن ذلك يعنى أن الكائن المرضي يمكن أن تنبت جراثيمه ويخترق خلايا بشرة العائل وينمو وينتج جراثيم جديدة كما لو كان ناميا على بيئة

صناعية . وتجدر الإشارة إلى أن المقاومة الأفقية تتوفر فى النبات قبل حدوث الإصابة بالمسبب المرضي ، برغم أن تأثيرها لا يظهر إلا بعد تعرض النبات للإصابة ، وعلى العكس من ذلك فإن المقاومة الرأسية لا تعمل إلا بعد التعرض للإصابة ، فمثلا نجد فى حالة مقاومة أوراق جميع الأصناف أيا كانت مقاومتها الرأسية ، ولا يبدأ التمييز بين السلالات إلا بعد ذلك ، حيث تظهر حالات فرط الحساسية ضد سلالات الفطر التى يقاومها الصنف بجينات المقاومة الرأسية المناسبة .

وراثة وطبيعة المقاومة الأفقية :

توجد عدة مصطلحات تتعلق بحالات المقاومة ، ووراثتها :

- مستوى المقاومة .

١- المقاومة :

Resistance :

هى قدرة العائل على الحد من نمو وانتشار الطفيل ، كما يعنى بالمصطلح – فى علم النيماتولوجى – اختراق أعداد قليلة من اليرقات ، حتى فى وجود أعداد كبيرة من اليرقات ، وتوفر الظروف المناسبة للإصابة .

٢- القابلية للإصابة :

Susceptibility :

تتناسب القابلية للإصابة عكسياً مع المقاومة ، ويقدر كلاهما على مقياس واحد .

- **عائل غير مناسب Unsuitable Host :**

يستخدم هذا المصطلح فى علم النيماتولوجى لوصف العوائل التى يحدث فيها نمو وتطور عاديان للنيماتودا، ولكن ببطء شديد ، وبذا لاتتكاثر فيها النيماتودا بنفس السرعة التى تتكاثر بها فى العوائل المناسبة.

- **المناعة Immunity :**

يعنى بالمناعة المقاومة المطلقة ، أى عدم القابلية للإصابة ، وهى لا يمكن وصفها بدرجات ، فالعائل إما أن يكون منيعاً ، وإما أن يكون غير منيع . وتعد أى درجة أقل من المناعة مقاومة .

- تحمل الإصابة Tolerance :

يستخدم مصطلح القدرة على تحمل الإصابة فى وصف العلاقة بين العائل والطفيل الذى يعتمد عليه دون أن يحدث فيه أضراراً ، كأن يتكاثر الفيروس داخل النبات دون أن تظهر على النبات أية أعراض مرضية ، وهى الحالات التى يطلق عليها اسم Symptomless carriers وقد تكون هذه الأعراض طفيفة بالرغم من تكاثر الفيروس جهازيّاً داخل النبات. ولهذه الحالة أهمية خاصة فى المحاصيل السلاطة كالخس من محاصيل السلالة ، حيث يكون لمظهر النبات أهمية كبرى .

- مقاومة المرض Disease Tolerance :

يستخدم هذا المصطلح فى وصف الحالات المرضية التى تظهر فيها الأعراض العادية للإصابة ، ولكن دون أن يتأثر المحصول الزراعى من جراء ذلك . وقد يكون لهذه الحالة عواقبها الخطيرة إذا وجدت عوائل أخرى حساسة للمسبب المرضى فى منطقة زراعة الصنف المقاوم للمرض. ولايجوز استخدام مصطلح Tolerance بمعنى المقاومة الأفقية أوالمقاومة المتوسطة، أو أى نوع آخر من المقاومة. كما لايجوز استعمال المصطلح Intolerance بمعنى عكس القدرة على تحمل الإصابة ؛ لأنه يعنى شدة حساسية العائل للمسبب المرضى (خاصة الفيروسى) ، لدرجة أن النباتات تموت بمجرد تعرضها لأية إصابات ، ويترتب على ذلك انتهاء كل من الفيروس والعائل ، فيتوقف انتشار المرض .

- الإفلات من الإصابة Disease Escape :

قد يكون الإفلات ، أو الهروب من الإصابة لأسباب بيئية ، أو زراعية ، وقد يرجع إلى صفات نباتية تتحكم فيها عوامل وراثية، ومن الطبيعى أن الحالة الثانية هى التى تهمنا فى هذا المقام . وجدير بالذكر أن النبات الذى يحمل عوامل وراثية تجعله يفلت من الإصابة هو نبات قابل للإصابة ، ولكنه لايصاب ، لأن صفاته تحول دون وصول الطفيل إلى الموقع المناسب للإصابة فى المرحلة المناسبة من النمو النباتى ، لحدوثها فى الظروف الطبيعية .

- طبيعة المقاومة :

١- المقاومة السلبية Passive Resistance :

تعود المقاومة السلبية إلى عوامل وأسباب خاصة تتوفر فى العائل قبل حدوث الإصابة، وهى تعرف كذلك باسم المقاومة الإستاتيكية Static Resistance .

٢- المقاومة النشطة Active Resistance :

تعود المقاومة النشطة إلى تفاعلات تحدث بين العائل والطفيل بعد الإصابة بالمسبب المرضى، وهى تعرف أيضاً باسم المقاومة الديناميكية Dynamic Resistance .

٣- فرط الحساسية Hypersensitivity :

إن فرط الحساسية هى الحالة التى تحدث فيها استجابة موضعية عنيفة لاختراق الطفيل لأنسجة العائل ، يتبعها موت سريع للأنسجة حول منطقة الاختراق، مما يؤدى إلى وقف انتشاره فى العائل.

المقاومة الكمية :

Quantitative Resistance :

تكون الانعزالات في حالات المقاومة التي يتحكم فيها عدد كبير من أزواج الجينات المستقلة حسب مفكوك المعادلة ذات الحدين $(r+s)^n$: ,حيث: n = عدد الأليلات المنعزلة .

r,s : أليلات المقاومة و القابلية للإصابة على التوالي .

فعندما يتحكم في الصفة عامل وراثى واحد (زوج من الأليلات) تصبح n =٢، ويصبح مفكوك المعادلة كما يلي : $(r+s)^2=r^2+2rs+s^2$ أى أن الجينات تنعزل بنسبة ١ مقاوم أصيل:٢ خليط: ١قابل للإصابة أصيل .

وعندما يتحكم في الصفة زوجان من الجينات تصبح n =٤ ، ويصبح مفكوك المعادلة كما يلي : $(r+s)^4=r^4+4r^3s+6r^2s+4rs^3+s^4$.

أى أن الانعزال في الجيل الثاني يصبح بنسبة ١:٤:٦:٤:١، و بذا فإن مفكوك المعادلة يعطى هرما من النسب الانعزالية كما يلي :

عددالعوامل الوراثية	النسب الانعزالية للفئات المظهرية
١	١:٢:١
٢	١:٤:٦:٤:١

٣ ١:٦:١٥:٢٠:١٥:٦:١

٤ ١:٨:٢٨:٥٦:٧٠:٥٦:٢٨:٨:١

أى أن عدد الفئات المظهرية يكون دائما : 2^n+1 .

وعندما تكون n كبيرة بقدر كاف .....فYان عدد الفئات المظهرية المنعزلة يزداد إلى درجة إعطاء توزيع مستمر لشدة الإصابة ففي الجيل الثانى دون وجود أية فواصل مميزة بين تلك الفئات .

ويجب ملاحظة الافتراضين التاليين بشأن تطبيق المعادلة السابقة :

١- أن جميع المواقع الجينية متساوية من حيث تأثيرها على صفة المقاومة .

٢- أن تأثير هذة الجينات إضافى وأن كل التباين الوراثى إضافى لأن السيادة التامة لهذه الجينات –إن وجدت – تغير الانعزلات من ١:٢:١ إلى٣:١ ومن ١:٤:٦:٤:١ الى١٥:١.... وهكذا دائما فئتان مظهريتان فقط ، مما يعنى استمرارية الاختلافات مهما كثرت أعداد الجينات المتحكمة فى صفة المقاومة .

و من أمثلة المقاومة الكمية : مقاومة النباتات البالغة للصدأ في القمح و غيره من النجليات ، ومقاومة الفاصوليا العادية للفطر *Fusarium solani f .phaseoli* المسبب لمرض عفن الجذور الأسود .

ومن حالات الوراثة الكمية كذلك القدرة على تحمل الإصابة بفيروس تجعد أوراق الطماطم الأصفر في السلالتين LA121,LA373 من النوع البرى L. pmpinelifolium . وقد أوضحت دراسات hassan و آخرون أن مقاومة هاتين السلالتين كانت متنحية جزئيا ، وذات نفاذية غير كاملة وقدرت درجة توريثها على النطاق الضيق بنحو ٠,٥٢ و٠,٢٧ في السلالتين على التوالى ، كما قدرت نسبة التباين الوراثى الكلى لصفة القدرة على تحمل الإصابة بنحو ٦١/ ،٤٤/ فى السلالتين على التوالى أيضا .

مقارنة بين المقاومة البسيطة و الكمية : يلخص جدول ٦ أوجه الاختلاف بين كل من المقاومة البسيطة والكمية .

جدول رقم ٦ : مقارنة بين المقاومة البسيطة والمقاومة الكمية .

أوجه المقارنة	المقاومة البسيطة	المقاومة الكمية
المظهر العام	تكون واضحة تماما – تظهر في أى مرحلة من النمو ، أو على النباتات البالغة فقط .	لا تكون تامة الوضوح – تظهر عادة فى طور البادرة و لكنها تزيد مع تقدم النبات نحو النضج .
طبيعة المقاومة	ترجع الى مناعة النبات أو فرط حساسيته للطفيل .	ترجع إلى نقص معدلات و درجة الإصابة وتقدم المرض وتكاثر المسبب المرضى .
الكفاءة الوراثية	عالية الكفاءة ضد سلالات معينة من المسبب المرضى.	تختلف ، و لكنها تكون ضد جميع سلالات المسبب المرضى.
الثبات	يتحكم فيها جين واحد ذو تأثير رئيسى. عرضة للفقد الفجائى بالسلالات الجديدة من المسبب المرضى .	يتحكم فيها عدة جينات ذات تأثيرات صغيرة ،و لكنها متجمعة . لا تتأثر بالتغيرات في جينات الضراوة التي يحملها المسبب المرضى .

الأسماء الأخرى التي تعرف بها	الرأسية Vertical .	الأفقية Horizontal .
	المتخصصةRace-specific.	غير المتخصصة السلالة- Race non-specific .
	البادرة Seedling .	النبات الناضج Mature Plant .
	المفرقة Differential .	النبات البالغ Aduit Plant .
	البسيطةMonogenic .	الحقل Field.
		المتجانسة Uniform .

قسم Abdallah & Hermsen , 1971 المقاومة الأفقية التى أطلق عليها اسم المقاومة المتجانسة Uniform resistance إلى طرازين . ترجع المقاومة الأفقية فى أحد هذين الطرازين إلى جينات غير متخصصة ، وهى جينات تتحكم أساسا فى صفات نباتية أخرى غير المقاومة ، ولكن تسهم فى المقاومة بطريقة غير مباشرة ، وينشأ هذا الطراز من المقاومة غالبا فى عشائر العائل التى توجد مناطق منعزلة عن تلك التى يوجد فيها الطفيل بحالة مستوطنة ، أما عن الطراز الثاني : فيتحكم فيه جينات متعددة متخصصة فى المقاومة ولكنها لا تكون متخصصة ضد سلالات من المسبب المرضي ، وتتحكم هذه الجينات فى تمثيل المركبات المسئولة عن إكساب العائل خاصية المقاومة ، ويعتقد أن هذا الطراز من المقاومة ينشأ فى عشائر العائل التى تنمو فى المناطق التى يتواجد فيها الطفيل بحالة مستوطنة .

الضراوة الكمية Aggressiveness **والضراوة النوعية** virulence **ووراثتهما والعلاقة بينهما :** تتضمن خاصية التطفل pathogenicity كلاً من مستوى ضراوة الطفيل ، أو ضراوته الكمية Aggressiveness ، وقدرة سلالاته على التغلب على جينات المقاومة فى العائل أو ضراوته النوعية virulence ، فجميع سلالات المسبب المرضي تعد ممرضة ، سواء كانت هذه السلالات تتفاعل مع أصناف العائل ، أم لا تتفاعل ، والجدير بالذكر أن السلالات التى تختلف فى مستوى الضراوة الكمية لا تتفاعل مع أصناف العائل التى تختلف فى مستوى مقاومتها الأفقية ، بينما تتفاعل السلالات التى تختلف فى ضراوتها النوعية مع أصناف العائل التى تختلف فى مقاومتها الرأسية . هذا ولا يتوفر أى دليل على وجود ارتباط موجب بين الضراوة

الكمية والضراوة النوعية ، ولكن قد يوجد ارتباط سالب بينهما ، إذ إن زيادة الضراوة النوعية قد تؤدى إلى خفض الضراوة الكمية ، وعندما تكون الظروف البيئية مناسبة لزيادة شدة الإصابة بمرض ما ، فإن الفرد لا يمكنه الحكم على ما إذا كان سبب هذه الزيادة هو حدوث زيادة فى مستوى الضراوة الكمية للطفيل أم أنه نقص فى مستوى المقاومة الأفقية للعائل تحت هذه الظروف . وتورث الضراوة النوعية عادة كصفة بسيطة monogenic أو كصفة يتحكم فيها عدد محدود من الجينات oligogenic ، بينما تورث الضراوة الكمية عادة كصفة يتحكم فيها عدد كبير من الجينات polygenic ، ومع ذلك فقد توجد حالات كمية من الضراوة النوعية التى يتحكم فيها عدد كبير من الجينات .

التأثير المتبادل للمقاومة الرأسية والضراوة النوعية :

Virulence :

كلما ازداد انتشار السلالات القادرة على إحداث الإصابة فى الأصناف ذات المقاومة الرأسية (السلالات الـ virulent على هذه الأصناف) قلت أهمية المقاومة الرأسية فى تأخير بداية ظهور الوباء ، وفى المقابل فإن التوسع فى زراعة الأصناف ذات المقاومة الرأسية يعد السبب الرئيسي فى انتشار السلالات القادرة على كسر مقاومة هذه السلالات ، أى أن الإقبال على زراعة صنف معين ذي مقاومة رأسية مرغوب فيها يؤدى تدريجيا إلى القضاء على مقاومة هذا الصنف وجميع الأصناف الأخرى التى تحمل نفس جينات المقاومة الرأسية .

التوازن بين المقاومة الرأسية والضراوة النوعية Virulence :

ظهور السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية :

استعانة بالندوة المتأخرة فى البطاطس كمثال ، وجد أنه قد حدث توازن بين كل من البطاطس والفطر المسبب للندوة المتأخرة منذ ومن بعيد وقبل ظهور جينات المقاومة الرأسية R - genes ، ولكن مع ظهور المرض بحالة وبائية ، وباكتشاف جينات المقاومة الرأسية اعتقد البعض أنه سيمكن التخلص من هذا المرض إلى الأبد، وفعلا لم يمكن اكتشاف أية نباتات مصابة بالندوة المتأخرة فى ألمانيا لعدة سنوات بعد إدخال الأصناف الحاملة للجين R_1 فى الزراعة عام ١٩٢٥ ، ولكن بدأ فى عام ١٩٣٢ ظهور بعض حالات الإصابة بين النباتات الحاملة لهذا الجين ، أى أن سلالات الفطر القادرة على إصابة النباتات الحاملة للجين R_1 لم تكن موجودة

أصلا عندما أدخلت النباتات الحاملة لهذا الجين فى الزراعة ، ولكنها ظهرت فـــى غضون نحو سبع سنوات من زراعتها ، ومع استمرار زراعة هذه الأصناف فإنها فقدت مقاومتها تماما ، وقد تكرر نفس الأمر لدي إدخال زراعة الأصناف الحاملـــة للجين R_1 فى دول أخرى مثل الولايات المتحدة وكندا وهولندا ، كما حـــدث نفـــس الشيء لدى زراعة أصناف تحمل جينات أخرى للمقاومة الرأسية مثل R_2 , R_3 .

يستدل مما تقدم على أن السلالات ذات الضراوة النوعية Virulence الزائـــدة على الحاجة (أى القادرة على كسر المقاومة الرأسية لأصناف ليست مستخدمة فى الزراعة) لا يمكنها البقاء وتظل نادرة الوجود ، برغم القدرة الهائلة للفطريات على التطفر ، ولا تظهر إلا عندما يكون الفطر فى حاجة إليها ، وتدل ندرة الســـلالات القادرة على التغلب علي المقاومة التى توفرها هذه الجينات ، كما تعـــد الجينـــات ضعيفة حينما تكون السلالات القادرة على التغلب على المقاومة التى توفرها هـــذه الجينات نادرة . وتكون النباتات مقاومة لبعض الكائنات الممرضة إما بسبب :

١- انتسابها إلى مجموعات تقسيمية تكون منيعة لهذه الكائنات .

٢- امتلاك هذه النباتات لجينات للمقاومة موجهه مباشرة ضد جينات الشـــدة فـــى الكائن الممرض (مقاومة حقيقية) .

٣- لأسباب مختلفة منها هروب النباتات أو تحملها للإصابة (مقاومة ظاهرية).

يهمنا فى هذا الجزء التناول بالتفصيل للمقاومة الحقيقية True resistance .

المقاومة الحقيقية :

إن مقاومه المرض التى يُتحكم فيها وراثيا عن طريق وجود واحـــد أو قلـــيلا أو كثيرا من جينات المقاومة فى النبات تعرف باسم المقاومة الحقيقية . فـــى هـــذه المقاومة يكون العائل والكائن الممرض غير متوافقين إلى حد ما لأسباب منهـــا أن النبات العائل يستطيع حماية نفسه ضد الكائن الممرض بواسطة ميكانيكيات دفاعية مختلفة موجودة سابقا أو مشجعة أو كاستجابة للإصابة بالكائن الممرض .

أنواع المقاومة الحقيقية :

أ - المقاومة الأفقية :

Horizontal resistance :

تسمى هذه المقاومة أحيانا باسم المقاومة الكمية أو المقاومة غير المتخصصة أو مقاومة الحقل أو المقاومة المتجانسة أو مقاومة النبات البالغ ولكن يشار إليها بالاسم الشائع (المقاومة الأفقية) .

ومن صفات هذه المقاومة وملامحها الآتى :

١- يتحكم فى هذه المقاومة عدد غير قليل أو كثير من الجينات غير الخاصة بالمقاومة Non specialized resistant genes .

٢- كل من هذه الجينات لوحده بمفرده تأثير صغير ضد الكائن الممرض ، ولكن مجموع تأثيرات هذه الجينات تعطى مقاومة أفقية ضد هذا الكائن .

٣- الجينات الكثيرة الداخلة فى المقاومة تبدى تأثيرها عن طريق التحكم بالخطوات العديدة من العمليات الفسيولوجية فى النبات التى تزيد المواد والتركيبات التى تشكل ميكانيكية الدفاع فى النبات .

٤- كفاءة المقاومة الأفقية تختلف ولكنها تكون ضد جميع سلالات المسبب المرضى وتتراوح مستويات هذه الاختلاف بين مستوى أفضل بقليل من القابلية للإصابة إلى مستوى أدنى بقليل من المقاومة الرأسية .

٥- تتأثر المقاومة الأفقيه وتختلف بواسطة الظروف البيئية المختلفة .

٦- لا تتأثر بالتغيرات فى جينات الشدة المرضية التى يحملها المسبب المرضى .

٧- لا تحمى النبات من الإصابة ولكنها تعمل على نقص معدلات ودرجة الإصابة وقلة التجرثم للمسبب المرضى ، أى أنها تعمل بالتحديد على بطء تقدم الوباء المرضى بعد أن يبدأ .

ب - المقاومة الرأسية :

Vertical resistance :

تعرف هذه المقاومة بأسماء : المقاومة البسيطة ، المقاومة المفرقة ، المقاومة الباردة ، المقاومة المتخصصة السلالة .

ومن صفات هذه المقاومة وملامحها :

١- يتحكم فيها جين واحد ذو تأثير رئيسى (أو عدد قليل) .

٢- عالية الكفاءة ضد سلالات معينه من المسبب المرضى .

٣- الجين أو الجينات القليلة الداخلة فى المقاومة تبدى تأثيرها فى التحكم بوضوح بدرجة كبيرة فى التفاعل بين الكائن المرضى و العائل النباتى حيث يستجيب العائل عادة بفرط الحساسية للطفيل (تفاعل الحساسية الفائقة) وبالتالى يفشل الكائن الممرض فى توطيد نفسه والتكاثر فى العائل .

٤- عرضة للفقد الفجائى بالسلالات الجديدة من المسبب المرضى .

٥- لا تتأثر كثيرا بالظروف البيئية .

٦- تعمل المقاومة الرأسية على تثبيط تكشف الوباء المرضى وذلك بتحديد أو تقليل اللقاح الأولى .

ملاحظات هامة على المقاومة الرأسية :

١- ليس لها أهمية كبيرة فى حالة المحاصيل المعمرة أو تلك التى يصعب تربيتها.

٢- ذات قيمه وأهمية كبيرة فى حالة الأمراض بطيئة الانتشار عما فى الأمراض سريعة الانتشار .

٣- تقل أهميتها عند استخدامها ضد المسببات المرضية السريعة التطفل .

٤- تقل أهميتها عند زراعة مساحات شاسعة من صنف واحد على درجه عالية من التجانس الوراثى فى منطقه جغرافية واحدة .

٥- تزداد الحاجة لأكثر من جين للمقاومة فى حاله الطفيليات الإجبارية .

٦- لا تجدى المقاومة الرأسية غالبا فى مقاومة الأمراض التي تنتقل مع الأجــزاء المستعملة فى تكاثر المحصول سواء كانت بذوراً أم أجزاءاً خضرية من النبات.

٧- تزداد قيمة أهمية المقاومة الرأسية إذا صاحبها مستوى جيد من المقاومة الأفقية.

٨- المقاومة الرأسية من السهل إدخالها فى برامج تربية النبــات وبالتــالى فإنهــا مفضلة على المقاومة الأفقية .

التطفل على أصناف العائل التى لا تحمل هذه الجينات. وبــالعكس ... فــإن ضعف جينات المقاومة الرأسية يعنى أن السلالات الجديدة القــادرة علــى كســر المقاومة التي تحدثها هذه الجينات تكون أكثر انتشاراً ، حيث تكون قــادرة علــى المعيشة رمياً بشكل جيد ، كما تحتفظ بقدرتها على التطفل على الأصــناف التــى تحمل جينات المقاومة الرأسية .

ويمكن أن تظهر السلالات الجديدة القادرة على كسر مقاومة الجينات القوية لو تكررت زراعة الأصناف الحاملة لنفس جينات المقاومة فى نفس قطعة الأرض فى عدة زراعات متتابعة لعدة سنوات ، كذلك قد تظهر هذه السلالات علــى الأنــواع القريبة المعمرة.

وسائل الاستفادة من جينات المقاومة الرأسية فى الحد من خطورة سلالات الطفيل الجديدة :

يمكن استغلال جينات المقاومة الرأسية بطريقة تسمح بالتغلب على خطــورة السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة التى تحدثها هذه الجينات ، أو الحد من سرعة ظهور هذه السلالات ، وذلك بإتباع إحدى الوسائل التالية :

١- إدخال عدة جينات للمقاومة الرأسية فى الصنف الواحد ، وهو الأمــر المتبــع حالياً بالنسبة لمقاومة صدأ الساق فى القمح فى كل من الولايات المتحدة وكندا .

٢- نقل جينات المقاومة للأصناف التجارية فى أزواج ، لأن المسبب المرضى يزيد ضراوته خطوة بخطوة ليقابل الزيادة فى مقاومة العائل ، فلو أمكن دفع العائــل خطوتين إلى الأمام فقد لا يكون بإمكان الطفيل اللحاق به بسهولة .

٣- استخدام الأصناف المتعددة للسلالات فى الزراعة .

أسس المفاضلة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية :

يجب أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان عند المفاضلة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية قبل الشروع فى برامج التربية لمقاومة الأمراض ؛ لأن لكل حالة نوع المقاومة الذى يناسبها كما يلى :

١- ليس للمقاومة الرأسية أهمية أو قيمة كبيرة بالنسبة للمحاصيل المعمرة ، أو تلك التى تصعب تربيتها ، فبينما يسهل إحلال صنف ذى مقاومة رأسية Vertical pathodeme محل آخر فى المحاصيل الحولية مثل الحبوب ، والبقوليات ، والبطاطس ، ومعظم محاصيل الخضر.. فإن ذلك يعد أمراً صعباً فى المحاصيل التى تبقى معمرة لفترة طويلة مثل الفاكهة وأشجار الغابات ، والقهوة ، والكاكاو. كذلك تختلف المحاصيل فى مدى سهولة أو صعوبة تربيتها حسب درجة توفر الاختلافات الرأسية Vertical variability بها . فبينما تزيد الإختلافات الرأسية وتسهل تربية محصول مثل قصب السكر ، نجد أن محصولاً معمراً آخر مثل الموز تقل فيه الإختلافات الرأسية وتصعب تربيته .

٢- تكون للمقاومة الرأسية قيمة وأهمية أكبر فى حالة الأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases عما فى الأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases .

تعتبر أمراض الذبول الفيوزارمى ، وذبول الفيرتسيليم ، وأعفان الجذور وغيرها من الأمراض التى تعيش مسبباتها فى التربة وتحدث الإصابة الطبيعية بها عن طريق الجذور من الأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest diseases، بينما تعتبر الندوة المتأخرة فى البطاطس وصدأ الساق فى القمح وغيرها من الأمراض التى تنتقل جراثيمها عن طريق الهواء ، وتحدث الإصابة الطبيعية بها عن طريق الأجزاء الهوائية للنبات من الأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases.

تتميز مسببات المجموعة الأولى ببطء انتشار سلالتها الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية للعائل (Vertical Pathotypes) بعد ظهورها فبينما يلزم مرور عشر سنوات على الأقل قبل الإنتشار الوبائى لأية سلالة جديدة فى النوع الأول من

الأمراض ، نجد أن السلالات الجديدة من النوع الثانى من الأمراض قد تنتشر فى قارة بأكملها فى خلال موسم زراعى واحد أو موسمين .

٣- تقل قيمة وأهمية المقاومة الرأسية عند استخدامها ضد المسببات المرضية السريعة التطفر ، تختلف درجة التطفر الرأسية Vertical mutability باختلاف المسببات المرضية ، حيث تكون أسرع وبمعدلات أعلى فى بعضها عما فى البعض الآخر ، وتحسب درجة التطفر بعدد المرات التى يمكن أن تظهر فيها سلالات جديدة من المسبب المرضى قادرة على كسر المقاومة الرأسية (Vertical Pathotypes) فى عشيرة من المسبب المرضى ذى حجم معين خلال عدد معين من الأجيال .

٤- تقل قيمة وأهمية المقاومة الرأسية عادة عند زراعة مساحات شاسعة من صنف واحد على درجة عالية من التجانس الوراثى فى منطقة جغرافية واحدة .

يزداد الضغط على المسبب المرضى لظهور سلالات جديدة منه قادرة على كسر المقاومة الرأسية للعائل كلما ازدادت المساحة المزروعة بالصنف الحامل لهذه المقاومة ، وكلما ازدادت كثافة الزراعة بهذا الصنف ، وازدادت درجة تجانسه الوراثى . وتتوفر جميع هذه العوامل فى زراعات القمح المقاومة لمرض صدأ الساق .

ويستفاد من ذلك في أن المقاومة الرأسية تكون فى أفضل صورها عندما تكون زراعة الصنف الحامل لجين المقاومة الرأسية فى حقول منعزلة ؛ لأن السلالة القادرة على إصابته لابد من أن تصله من حقل آخر مزروع بنفس الصنف .

وتجدر الإشارة فى هذا المقام إلى أن المقاومة الأفقية على خلاف المقاومة الرأسية تكون فى أفضل صورها عند زراعة مساحات كبيرة متجاورة من الصنف المقاوم ؛ لأن حدوث الإصابة فى حقل ما تتوقف على وصول الفطر من الحقول الأخرى المجاورة له ، فإذا كانت هذه الحقول مزروعة كذلك بنفس المقاومة الأفقية .. فإن ذلك يؤدى إلى خفض كمية اللقاح التى تصل إلى الحقل . أما إذا وجدت المقاومة الأفقية العالية وسط حقول أخرى تقل فيها المقاومة الأفقية فإن المقاومة تكون فى أقل صورها .

٥- تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا أمكن التحكم فى الانتخاب المثبت وتوجيهه .

من المعروف أن الانتخاب المثبت Stabilizing Selection يتأثر بمدى قوة جينات المقاومة الرأسية ، حيث يزيد كلما كانت الجينات أكثر قوة ، وهو ما يعني سرعة اختفاء السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية ؛ في غياب زراعة الأصناف المقاومة ؛ كلما ازدادت قوة الجينات المسئولة عن هذه المقاومة .

هذا .. إلا أنه لايمكن التحكم فى الانتخاب المثبت عندما يكون المسبب المرضى قادراً على الدخول فى طور سكون لفترات طويلة ، كما فى بعض المسببات المرضية مثل الفطر *Synchytrium endobioticum* ، والنيماتودا المتحوصلة Heterodera spp. ؛ لأنه لا يمكن التحكم فى الانتخاب المثبت خلال فترات السكون .

٦- بينما يلزم جين واحد قوى من جينات المقاومة الرأسية لتوجيه الانتخاب المثبت ضد الطفيليات الاختيارية ، فإنه يلزم جينان قويان على الأقل فى حالة الطفيليات الإجبارية .

لا يظهر دور الانتخاب المثبت Stabilizing Selection فى حالة الطفيليات الإجبارية إلا عند نمو السلالات القادرة على كسر مقاومة رأسية معينة على أصناف تخلو من الجينات التى تتحكم فى تلك المقاومة ، فمثلاً .. عندما تصيب السلالة (1,2.3,4) من الفطر *P.infestans* صنفاً من البطاطس لا يحمل أى جينات للمقاومة الرأسية ، فإن الضراوة الزائدة فى هذه السلالة تفقد تدريجياً إلى أن تصبح كالسلالة (4) .

ويمكن استغلال ظاهرة الانتخاب المثبت وتوجيهها فى صالح المقاومة بتبادل زراعة أصناف تحمل جينات مختلفة للمقاومة الرأسية فى حالة الطفيليات الإجبارية، ويلزم لتحقيق ذلك جينان قويان على أقل تقدير ، أما فى حالة الطفيليات الإختيارية.. فإن الانتخاب المثبت يمكن أن يحدث خلال النمو الرمى للمسبب المرضى ، وهو ما يعنى إمكان توجيه ظاهرة الانتخاب المثبت لصالح المقاومة ، حتى لو لم يتوفر سوى جين واحد قوى للمقاومة الرأسية .

٧- لا يجدى تنطيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية فى المناطق الزراعية المتجاورة إلا بالنسبة للأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases .

تعرف عملية تنظيم زراعة مختلف مصادر المقاومة الرأسية لنفس المرض فى المنطقة الجغرافية الواحدة باسم Pattern in Space ، وترجع أهميته إلى أن استمرار زراعة صنف معين ، أو أصناف معينة ، تحمل نفس جين المقاومة الرأسية فى نفس المنطقة بصفة دائمة ، وهو ما يعرف باسم Monoculture يضع ضغطاً قوياً على المسبب المرضى لإنتاج سلالات جديدة قادرة على كسر هذه المقاومة الرأسية. ويمكن تجنب هذا الوضع بزراعة أصناف تختلف فى مقاومتها الرأسية متجاورة فى نفس الموسم الزراعى Pattern in Space ؛ أو بالتبادل فى مواسم زراعية مختلفة Pattern in Time . يكون لتنظيم زراعة المقاومات الرأسية المختلفة فى الموسم الزراعى الواحد دور هام بالنسبة للأمراض السريعة الانتشار ، ويمكن تحقيق هذا التنظيم بإحدى طريقتين كما يلى :

ا- النمط المحصولى :

Crop Pattern :

وفيه تزرع سلسلة من الأصناف الحاملة لجينات مختلفة من المقاومة الرأسية فى مناطق تمتد بعرض قارات بأكملها بحيث يكون امتداد تلك المساحات الشاسعة عمودياً على اتجاه تقدم وانتشار الوباء فى القارة ، يؤدى ذلك إلى تأخير تقدم الوباء أثناء تقدم المسبب المرضى حيث يواجه فى كل منطقة بمقاومة رأسية . ويعرف مخطط التوزيع الجغرافى لجينات المقاومة الرأسية باسم "نشر جينات المقاومة" Gene Deployment .

ب- النمط النباتى :

Plant Pattern :

يقصد بذلك زراعة صنف متعدد السلالات Multiline Variety فى المنطقة الجغرافية الواحدة ، وبذلك يقاوم كل نبات سلالات الفطر غير المتوافقة معه . ويجب أن تكون جينات المقاومة الرأسية المستخدمة فى كلا النمطين الزراعيين قوية لكى يكون الانتخاب المثبت قوياً .

٨- لا يجدى تنظيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية فى المواسم الزراعية المتتالية إلا بالنسبة للأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases .

تعرف عملية تنظيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية لـنفس المرض فى نفس الموقع خلال المواسم الزراعية المتتالية باسم Pattern in Time، وهى تلعب دوراً هاماً بالنسبة لمقاومة الأمراض البطيئة الانتشار، ويمكن تحقيق هذا التنظيم باتباع دورة زراعية مناسبة تتضمن إما زراعة محاصيل مختلفة، وإما زراعة مقاومات رأسية مختلفة فى نفس قطعة الأرض خلال سنوات الدورة .

٩- لاتجدى المقاومة الرأسية غالباً فى مقاومة الأمراض التى تنتقل مع الأجزاء المستعملة فى تكاثر المحصول سواء أكانت بذورا ، أم أجزاء خضرية من النبات .

إن الفائدة الأساسية للمقاومة الرأسية ، كما سبق أن أوضحنا ، هى خفض اللقاح الأولى Initial Inoculum الذى يبدأ منه الوباء ، فإذا كان اللقاح ينتقل تلقائياً مع الأجزاء النباتية المستخدمة فى التكاثر، فإن المقاومة الرأسية تصبح عديمة الجدوى .

أما فى الأمراض السريعة الانتشار مثل الندوة المتأخرة فى البطاطس فإنه يكفى وجود درنة واحدة مصابة من بين كل ١٠٠,٠٠٠ درنة لحدوث الوباء ، وهى درجة لا يمكن الحصول عليها فى الوقت الحاضر بالإمكانات المتاحة .

١٠- يمكن فقدان المقاومة الرأسية بسهولة إذا كانت الحماية التى توفرها ليست كاملة : إن الحماية التى توفرها المقاومة الرأسية ضد السلالات غير المتوافقة معها قد تكون تامة ، أو غير تامة . فإذا كانت الحماية تامة وزرعت مساحات شاسعة (مليون فدان مثلاً) بصنف أو مجموعة من الأصناف التى تحمل نفس جين المقاومة الرأسية .. فإن هذا لن يسمح بظهور المرض وبذا لا تتوفر الفرصة لظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى متوافقة مع هذا الجين . أما إذا كانت الحماية التى توفرها المقاومة الرأسية غير تامة ، فإنه تحدث بعض الإصابات المرضية القليلة التى يترتب عليها إعطاء فرصة كبيرة لظهور سلالات جديدة متوافقة من المسبب المرضى ، وبذا تُفقد المقاومة بسهولة .

١١- يكون للمقاومة الرأسية فائدة أكبر فى المناطق التى تكون المواسم الزراعية فيها مغلقة ، يقصد بالمواسم المغلقة Closed Seasons تلك التى لا تتداخل فيها المواسم المتتالية حيث تفصل بينها ظروف قاسية لاتناسب الزراعة كشتاء قارس البرودة ، أو موسم جفاف طويل ، وتؤدى المواسم المغلقة إلى تقليل عشيرة

المسبب المرضى ، وهو أمر عظيم الأهمية بالنسبة للأمراض السريعة الإنتشار فى المحاصيل الحولية .

١٢- تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا وضعت لها القوانين التى تحميها ، مع مراقبة تنفيذها بدقة . من أمثلة القوانين التى يجب أن توضع وتنفذ لحماية المقاومة الرأسية ما يلى :

أ- منع زراعة أصناف قابلة للإصابة مع الأصناف المقاومة ؛ لأن هذا المنع يجبر المسبب المرضى على أن يعيش فى صورة جراثيم ساكنة فقط ، وبذا لا تتمكن السلالات غير المتوافقة مع المقاومة الرأسية من التكاثر ، وتقل فرصة ظهور سلالات جديدة متوافقة منها .

ب- قوانين اعتماد التقاوى .

جـ- تنظيم زراعة المقاومات الرأسية فى المكان والزمان .

قصر استخدام جينات المقاومة الرأسية فى حالات الأمراض السريعة الانتشار على الأصناف المتأخرة ، والزراعات المتأخرة ، ذلك لأن المسبب المرضى يصل إلى تلك الزراعات من الأصناف المبكرة .. وبينما تكون زراعة هذه الأصناف فى بداية مراحل الوباء ولا تتأثر كثيراً به ، فإن الأصناف المتأخرة تنمو أثناء تقدم الوباء ، ويؤدى استخدام المقاومة الرأسية فى الزراعات المبكرة إلى ظهور السلالات المتوافقة معها ، وانتقالها إلى الزراعات المتأخرة ، حيث تقضى عليها .

١٣- تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا صاحبها مستوى جيد من المقاومة الأفقية : سبق أن أوضحنا أهمية هذا الأمر فى إبطاء تقدم الأوبئة .

١٤- يكون الضرر الناشئ عن انهيار المقاومة الرأسية المعقدة (التى يتحكم فيها عدة R-genes) أقل من الضرر الناشئ عن انهيار المقاومة الرأسية البسيطة .

إن انهيار المقاومة الرأسية المعقدة Complex Vertical Resistance يعنى ظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى متوافقة معها ، ذات ضراوة رأسية معقدة Complex Vertical Pathotype.

ويبدو فى حالة مسببات الأمراض السريعة الانتشار على الأقل أن زيادة الضراوة الرأسية لسلالة ما (بزيادة عدد الـ V-genes التى تحتوى عليها السلالة)

ترتبط بانخفاض مستوى الضراوة الأفقيـة Aggressiveness لهـذه السـلالة (أى قدرتها على إصابة العائل والتكاثر وإحداث الضرر) . وأكبر دليل على صحة ذلك سرعة اختفاء السلالات ذات الضراوة الرأسية المعقدة بمجرد التوقف عن زراعـة الأصناف المقابلة لها الحاملة للمقاومة الرأسية المعقدة .

وجدير بالذكر أن الانخفاض فى مستوى الضراوة الأفقية لسلالة ما من المسبب المرضى يماثل تماماً الزيادة فى المقاومة الأفقية للعائل . وبـذا فـإن أى انهيـار للمقاومة الرأسية المعقدة يعنى تعرضها للإصابة بسلالات منخفضـة الضـراوة ، فيصبح العائل كما لو كان ذا مقاومة أفقية عالية .

التغيرات ونشوء السلالات فى المسبب المرضى :

تختلف الطفيليات (فطريات ، بكتريا ، فيروسات ، نيماتودا ، ميكوبلازمـا) فى قدرتها المرضية virulence. كما تختلف سلالات الطفيل الواحد فى هذه القـدرة كما تختلف النباتات فى قابليتها للإصابة susceptibility بواحد أو أكثر مـن هـذه السلالات . ومن المعروف أنه فى أى مجموع نباتى قد يلاحظ عدة نباتات فرديـة شديدة المقاومة للسلالات الفطرية الشديدة الضراوة ، ولكن قدرة هذه النباتات على المقاومة لا تبقى كذلك مده طويلة ، حيث إن وجود مجموع population مقاوم من العائل النباتي يخلق ضغطاً انتخابياً على سلالات الطفيل فتظهر منه سلالات أشـد ضراوة أو أكثر قدرة على إصابه هذا المجموع النباتى المقاوم . وباستمرار زراعة هذه الأصناف المقاومة من النبات يؤدى ذلك إلى زيادة مستمرة فى سلالات الفطر الشرسة الجديدة ، وعلى ذلك فبعد فترة من الوقت يصبح المجموع النباتى الذى كان يعرف بمقاومته الشديدة قابلاً للإصابة مرة أخرى بالسلالة أو السلالات الجديدة التى ينتجها الفطر .. الأمر الذى يستدعى معه بدأ برامج تربية جديدة لاستحداث أصناف مقاومه لهذه السلالات الشرسة الجديدة . ومن ذلك نرى أن هنـاك تحـدياً دائمـاً وحرب مستمرة بين مربى النباتات من ناحية وبين المسببات المرضية من ناحيـة أخرى ، فكلما اكتشف المربى صنفا نباتيا مقاوما كان ذلك مدعاة للضـغط علـى الطفيل لانتخاب سلالات أشد ضراوة من ذى قبل . من ذلك يتضح أهمية استمرار عمليات التربية لإيجاد أصناف مقاومة للأمراض النباتية .

ويطلق على المجاميع النقية المتجانسة من النوع الواحد من الكائن الحى اسـم سلالة Race . وتعرف السلالات الفسيولوجية physiological races بأنها مجـاميع

من الفطريات والبكتيريا تنتمى إلى نفس النوع وتتميز بتشابها مورفولوجيا ، واختلافها فسيولوجيا ، ولكنها تتميز بتباين قدراتها على إحداث الإصابة فى أصناف النوع النباتى الواحد Cultivars . تحتوي السلالات الفسيولوجية الجديدة على جينات جديدة للضراوة تكون قادرة على كسر جينات المقاومة التى تتوفر فى الأصناف التجارية المزروعة ، إلا أن أية سلالة جديدة قد تكون فى واقع الأمر خليطا من عديد من التباينات الوراثية للمسبب المرضي ، فيما يتعلق بالصفات المورفولوجية والفسيولوجية ، وربما كذلك فى صفات الضراوة الخاصة بعوائل أخرى تحتوى على جينات أخرى للمقاومة ، إلا أنها جميعا تشترك فى جين الضراوة المسئول عن كسر مقاومة جين المقاومة فى العائل . تنشأ السلالات الفسيولوجية الجديدة بواسطة طرق عامة والوسائل المتخصصة والتى سبق الإشارة عنها فى الباب الأول (الفصل الأول) .

الخلاصة :

يعد Flor هو مؤسس نظرية الجين للجين التى توصل إليها فى عام ١٩٤٢ من دراساته على المقاومة للفطر *Melampsora lini* المسبب لصدأ الكتان ، ولقد أثبتت فكرة جين لكل جين أولا فى حالة الكتان ، ولكن تبين حدوثها عمليا فى أصداء أخرى وفى أمراض أخرى ناتجة عن مسببات مرضية مختلفة ، وقد تبين أنه فى كل هذه الأمراض عندما يكون الصنف مقاوما للكائن الممرض كنتيجة لثلاثة جينات مقاومه فإن الكائن الممرض الذى يمكن أن يهاجمه يحتوي أيضا على ثلاث جينات لشدة الإصابة بالترتيب مع جينات العائل ، وأن الكائن الممرض بشكل عام يختلف مع كل نوع من العوائل النباتية وغالبا ما يكون متخصصا مع عائل نباتى معين ، والذي يجعل تكشف المرض ممكنا فى العائل هو وجود جين أو اكثر فى الكائن الممرض للتخصص والشدة ضد عائل معين والذى بدوره يمتلك جينات معينة للتخصص وللقابلية للإصابة بكائن ممرض معين . الجين أو الجينات المسئولة عن الشدة فى الكائن الممرض تكون عادة متخصصة لواحد أو لقليل من أنواع نباتات العائل المتقاربة وراثيا . الطفرات نحو الشدة المرضية ليست أكثر احتمالا فى الوقوع من الطفرات التى تحدث فى أى صفه وراثية أخرى ، ولكن نظرا للنسل الكثير الذى ينتجه الكائن المرضى فإن احتمال حدوث الطفرة فى هذا النسل العديد احتمالات عالية ؛ ولذلك فإنه من المحتمل أن عددا كبيرا من الطفرات المختلفة فى

شدتها عن أبويها تظهر فى الطبيعة كل سنة . بجانب ذلك فإن عددا قليلا فقط من الأصناف المتماثلة وراثيا لكل محصول نباتى تزرع باستمرار فوق مساحه كبيرة من الأرض ولفترة محددة لعدة سنوات . وباعتبار الصعوبات الداخلة فى التغيير من صنف إلى أخر من غير إعطاء مهلة كافية فإن التهديد فى ظهور طفرات جديدة وشديدة تهاجم الصنف المقاوم سابقا تصبح حقيقة واقعة .

الأسئلة :

١- ما هو السبب الوراثي الذى يجعل الكائن الممرض متخصصا مع عائل نباتي معين ؟

٢- ما الذي يجعل تكشف المرض ممكنا فى العائل النباتي ؟

٣- علل : لماذا تكون بعض المسببات المرضية قادرة على مهاجمة عدة أنواع من العوائل النباتية ؟

٤- لماذا توجد أفراد من نوع نباتي معين تعيش إما خالية من الأمراض أو يظهر عليها قليل من الأعراض ؟

٥- ما الذي يحدث فى المسبب المرضي إذا تم إدخال جين جديد للمقاومة فى العائل النباتي الذى يتطفل عليه ؟

٦- أذكر ما تعرفه عن نظرية الجين للجين فى التخصص العائلي لمسببات أمراض النبات ؟

٧- وضح فى جدول التفاعل المتزامن بين جينات سلالتين من المسبب المرضي أحدهما تحمل جينات الشدة a والأخرى تحمل جينات عدم القدرة على الإصابة A مع سلالتين من العائل النباتي إحداهما يحمل جين المقاومة R والآخر يحمل جين القابلية للإصابة ؟

٨- عرف كلمة سلالة Race ، السلالات الفسيولوجية ؟

٩- اشرح الطرق المختلفة العامة والخاصة لنشأة السلالات الفسيولوجية فى مسببات أمراض النبات ؟

١٠- علل لماذا يزداد احتمال حدوث الطفرات فى مسببات أمراض النبات ؟

١١- أذكر أسباب كسر صفة المقاومة فى العائل النباتي ؟

١٢- لماذا تصبح التهديدات فى ظهور طفرات جديدة وشديدة تهاجم الصنف المقاوم حقيقة واقعة ؟

أجب بنعم أم لا مع التعليل :

١-يعد Flor هو مؤسس نظرية الجين للجين من دراساته على المقاومة للفطر المسبب لمرض صدأ الكتان .؟

٢-جينات قابلية النبات للإصابة تكون سائدة بينما جينات المقاومة تكون متنحية كجينات الشدة فى المسبب المرضي ؟

٣-انعدام المقاومة يعنى أن المسبب المرضي تنبت جراثيمه ويخترق خلايا بشرة العائل وينمو وينتج جراثيم جديدة كما لو كان ناميا على بيئة صناعية ؟

٤-تتوفر المقاومة الأفقية فى النبات قبل حدوث الإصابة بينما لا تعمل المقاومة الرأسية للنبات إلا بعد التعرض للإصابة ؟

٥-يتحكم فى المقاومة الأفقية عدد محدود أو عدد كبير من الجينات ليست خاصة بالمقاومة بينما يتحكم فى المقاومة الرأسية جينات متخصصة فى المقاومة ؟

٦-تعمل المقاومة الأفقية على تأخير ظهور الوباء ؟

٧-تكون المقاومة الرأسية عديمة الجدوى إذا كان لقاح المسبب المرضي ينتقل تلقائيا مع الأجزاء النباتية المستخدمة فى التكاثر ؟

٨-قدرة النباتات على المقاومة لا تبقى مدة طويلة بسبب أن استمرار زراعتها يؤدي إلى زيادة مستمرة فى سلالات المسبب المرضي الشرسة ؟

اختر الإجابة الصحيحة من بين الإجابات التالية :

١- يمكن تنظيم زراعة المقاومات الرأسية المختلفة فى الموسم الزراعي الواحد باستخدام الطرق التالية :

أ- النمط المحصولي والذى فيه تزرع الأصناف الحاملة لجينات المقاومة الرأسـية في مناطق تمتد عبر قارات بأكملها بحيث يكون امتداد تلك المساحات عموديـا على اتجاه تقدم الوباء .

ب- النمط النباتي بزراعة صنف متعدد السلالات فى منطقة جغرافية واحدة .

٢- تكون المقاومة رأسية عندما :

أ- يصبح الصنف مقاوما لسلالة أو لعدد محدود من سلالات الطفيل .

ب- يكون الصنف مقاوما بنفس الدرجة لجميع سلالات الطفيل .

ج- جميع الإجابات السابقة صحيحة .

الباب الثالث

الفصل الأول

الطفرة Mutation

الأهداف : من المتوقع في نهاية دراسة هذا الفصل ان يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا علي أن :

١- يتفهم معنى الطفرة
Mutation

٢- يستوعب التغيرات الكروموسومية العددية و التركيبية
Chromosomal aberrations

٣- يتفهم معنى التغير فى الجين
Point mutation

٤- يتفهم معنى الطفرة التلقائية والمستحدثة
Spontaneous Versus Induced Mutation

٥- يتعرف على التأثيرات المظهرية للطفرات
Phenotypic Effects of Mutations

٦- يتفهم معنى الطفرات الجسمية والجرثومية (الجنسية)
Somatic and Germinal Mutations

٧- يستوعب الأساس الجزيئى للطفور
The Molecular Basis of Mutation

المقدمة :

الطفرة mutation هى عبارة عن تغير مفاجيء فى التركيب الوراثى للفرد بحيث أن هذا التغير يورث إلى النسل، شريطة ألا يكون ناتجاً عن الإتحادات الجديدة للتباين الوراثى الموجود ، والكائن الذى يبدى شكلاً مظهرياً جديداً نتيجة لوجود الطفرة يسمى بالطافر mutant.

يعتمد التوارث على الجينات التى تنتقل بدقة من الآباء إلى النسل فى عملية التكاثر للكائنات الراقية حيث توجد الجينات فى كروموسوماتها التى تتكرر وتنتقل إلى النسل عبر الجاميطات خلال عملية التكاثر الجنسى. وتتكون هذه الجينات من

DNA ويتمثل محتواها فى تتابعات من أزواج القواعد التى تتكرر بدقة خلال عملية التناسخ شبه المحافظ. وتشتمل إنزيمات بلمرة الـ DNA التى تساعد في عملية تكراره على نشاط إنزيم إكسونيوكليز (هدم DNA من طرفه) فى الإتجاه 3′→5′ مما يمكنها من مراجعة جزيئات DNA الناتجة وتصحيح الأخطاء الحادثة خلال تفاعل البلمرة أى أن هناك ميكانيكيات قد نشأت لتسهيل النقل الصحيح للمعلومات الوراثية من جيل إلى آخر . ومع ذلك تحدث بعض "الأخطاء" أو التغيرات فى مادة الوراثة. وهذه الأخطاء المفاجئة والمتوارثة فى مادة الوراثة تسمى بالطفرات mutations. مثل هذه التغيرات قد تكون فى العدد الكروموسومى (التضاعف المنتظم euploidy وغير المنتظم aneuploidy ، أو فى تركيب الكروموسومات (الشذوذات الكروموسومية Chromosomal aberrations) أو فى جينات بعينها . وكثيراً ما يستعمل مصطلح طفرة فى الوقت الحاضر للدلالة على التغيرات الجينية، وسوف نعطى نبذة عن كل جزء من هذه التغيرات .

ويشمل التضاعف المنتظم وغير المنتظم .

١- التغير فى العدد الكروموسومى Change in chromosomal number

٢- التغير فى تركيب الكروموسوم Change in chromosome structure

٣- تغير فى الجين Point mutation

أولاً: التغيرات فى العدد الكروموسومى :

Change in chromosomal number

١- التغيرات المجموعية (التضاعف المنتظم) :

Euploidy

وتشمل فقد أو زيادة مجموعة كاملة متماثلة للهيئة الكروموسومية (n)أو 2n أو 3n ـــ الخ .

* فلو أن الهيئة الكروموسومية كانت من ٤ أزواج كروموسومية كما يلى AA BB CC DD (2n) .

- فإن فقد مجموعة كروموسومية كاملة (n) يجعلها تصبح (n) وتكون A B C D .

- وإن زيادة مجموعة كروموسومية كاملة (n) يجعلها تصبح (3n) وتكون AAA BBB CCC DDD .

- وبالتالى زيادة مجموعتين (2n) يجعلها تصبح (4n) وتكون AAAA BBBB CCCC DDDD .

وهكذا ويسمى هذا النوع من التضاعف بالتضاعف الذاتى و ينشأ نتيجة تهجين جاميطات غير مختزلة بأخرى عادية أو غير مختزلة أو قد يحدث صناعيا بالكلوشيسين .

جاميطة n × جاميطة 2n ← أفراد 3n

جاميطة 2n × جاميطة 2n ← أفراد 4n

أو قد تنسأ الأفراد الرباعية بتضاعف الأفراد الثنائية بالكلوشيسين .

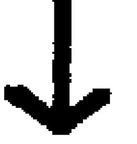
أفراد 2n ← أفراد 4n

وقد يحدث التضاعف نتيجة التهجين بين الأنواع مثل التهجين بين الفجل Radish والكرنب Cabbage (شكل رقم ٤١، ٤٢) حيث يحتوى كل منهما على تسعة أزواج من الكروموسومات فعند التهجين بينهما فالجيل الأول الناتج يكون عقيما وبإجراء التضاعف لـ F1 بالكولشيسين تنتج أفراد رباعية خصبة تسمى شبيهه الثنائى amphidiploid كما هو موضح بالشكلين التاليين :

Radish	Cabbage
Chromosome number $2n_1 = 18$	Chromosome number $2n_2 = 18$
Gametes $n_1 = 9$	Gametes $n_2 = 9$

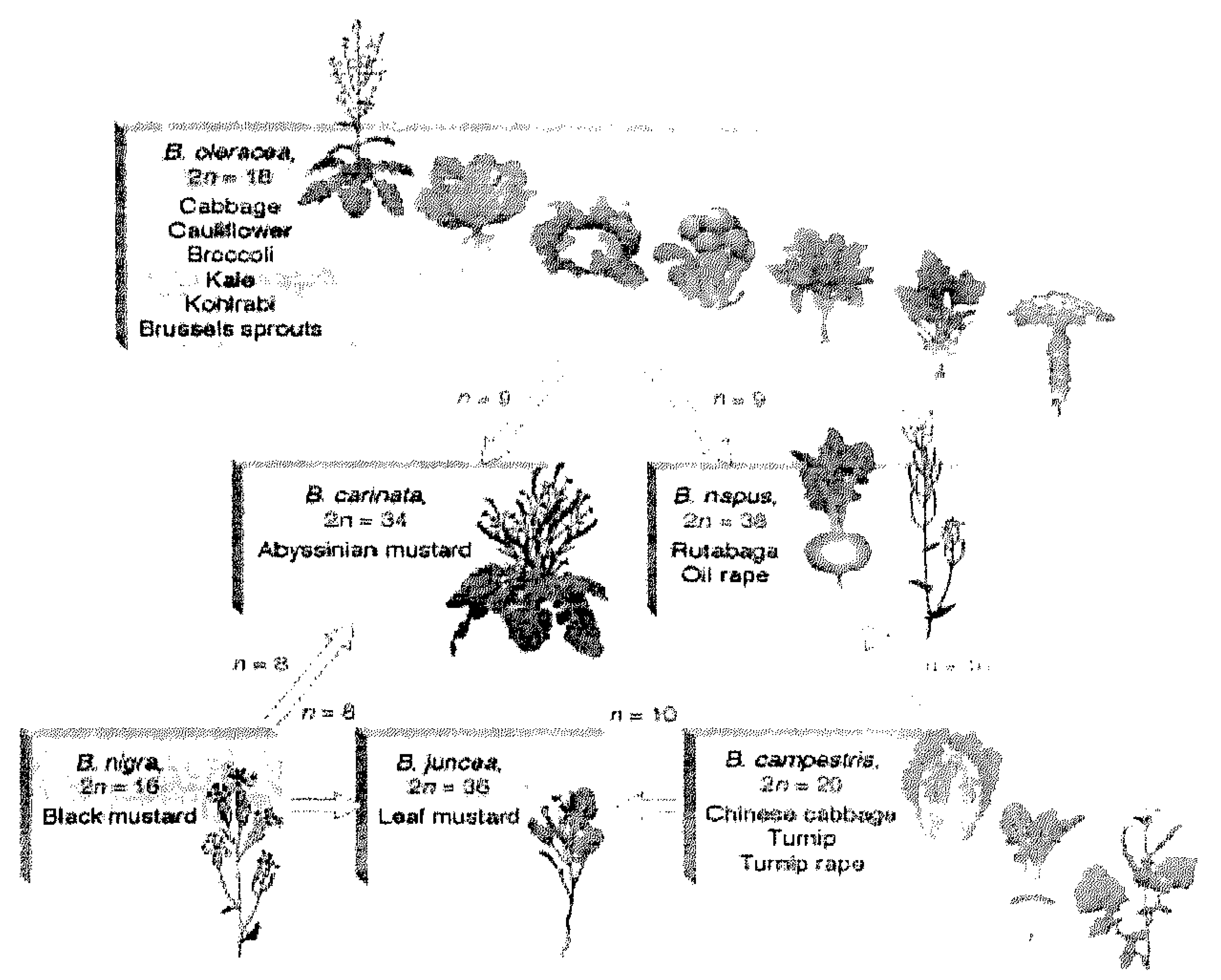


hybrid has $n_1 + n_2 = 18$
Sterile



Chromosome Doubling to 36 chromosomes
gametes are normal

شكل رقم ٤١ : التهجين بين الفجل Radish **والكرنب** Cabbage



شكل رقم ٤١ : التهجين بين الفجل Radish والكرنب Cabbage

٢- التغيرات العددية (التضاعف غير المنتظم) :

Aneuploidy

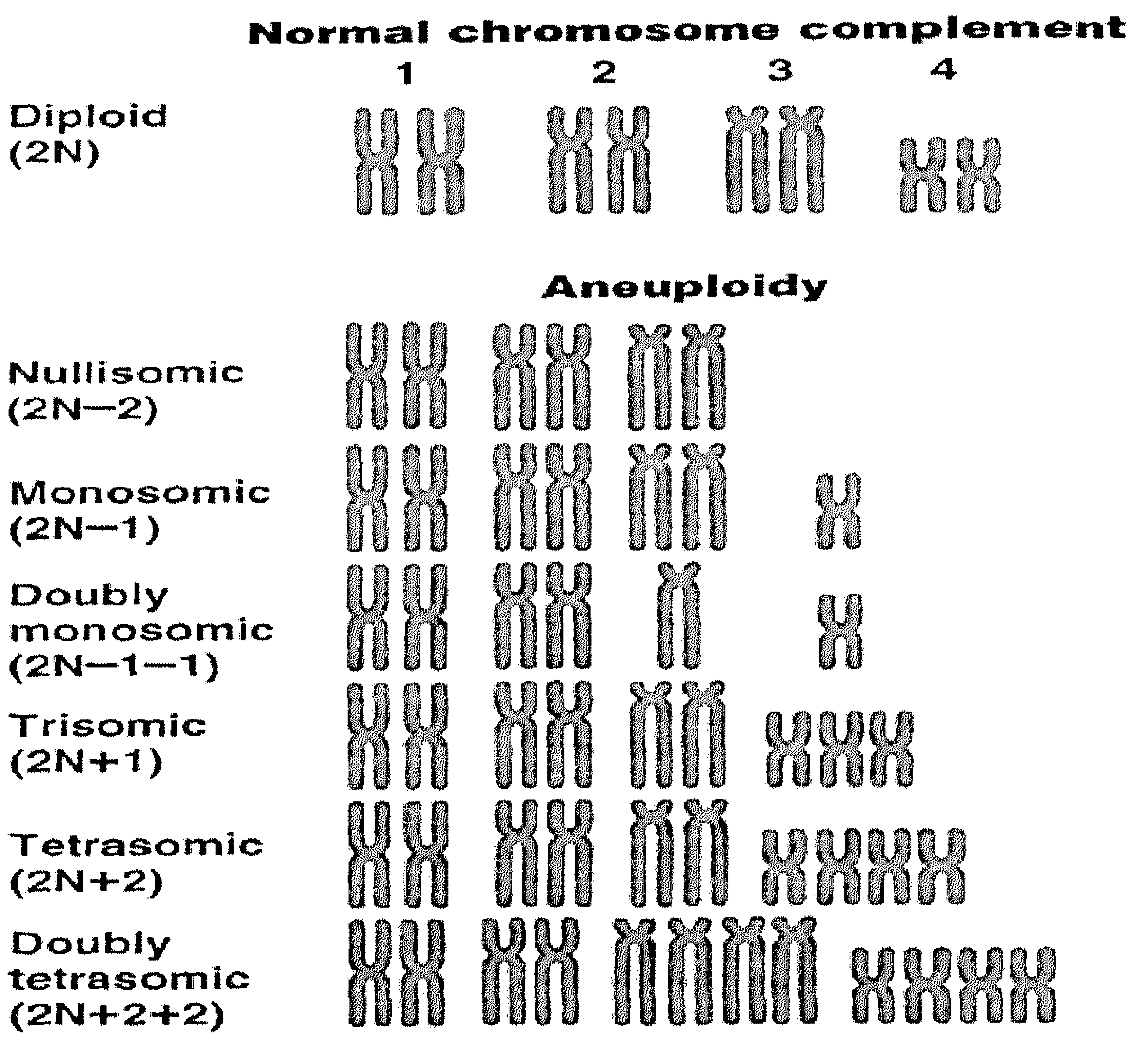
وهو يشمل زيادة أو نقص فى أحد الكروموسومات فالهيئـــة الكروموســومية تحتوى على 2n فيمكن أن ينقص واحد أو أكثر من الكروموسومات كالآتى (شكل رقم ٤٣) .

Normal diplid	2N	AA BB CC
Monosomic	2N-1	AA BB C -
Nullisomic	2N-2	AABB - -

أو قد يزيد كروموسوم أو أكثر للهيئة الكروموسومية :

Trisomic	2N +1	AA BB CCC
Double trisomic	2N+1+1	AABBB CCC
Tetrasomic	2N+2	AA BB CCCC

إن هذا التباين يؤدى إلى وجود خلايا تكون أنويتها تحتوى علـــى عـــدد مـــن الكروموسومات يختلف عن الوضع الطبيعى 2n .



شكل رقم ٤٣ : التغيرات الكروموسومية العددية

ثانياً:التغيرات فى تركيب الكروموسوم :

Changes in chromosome stracture

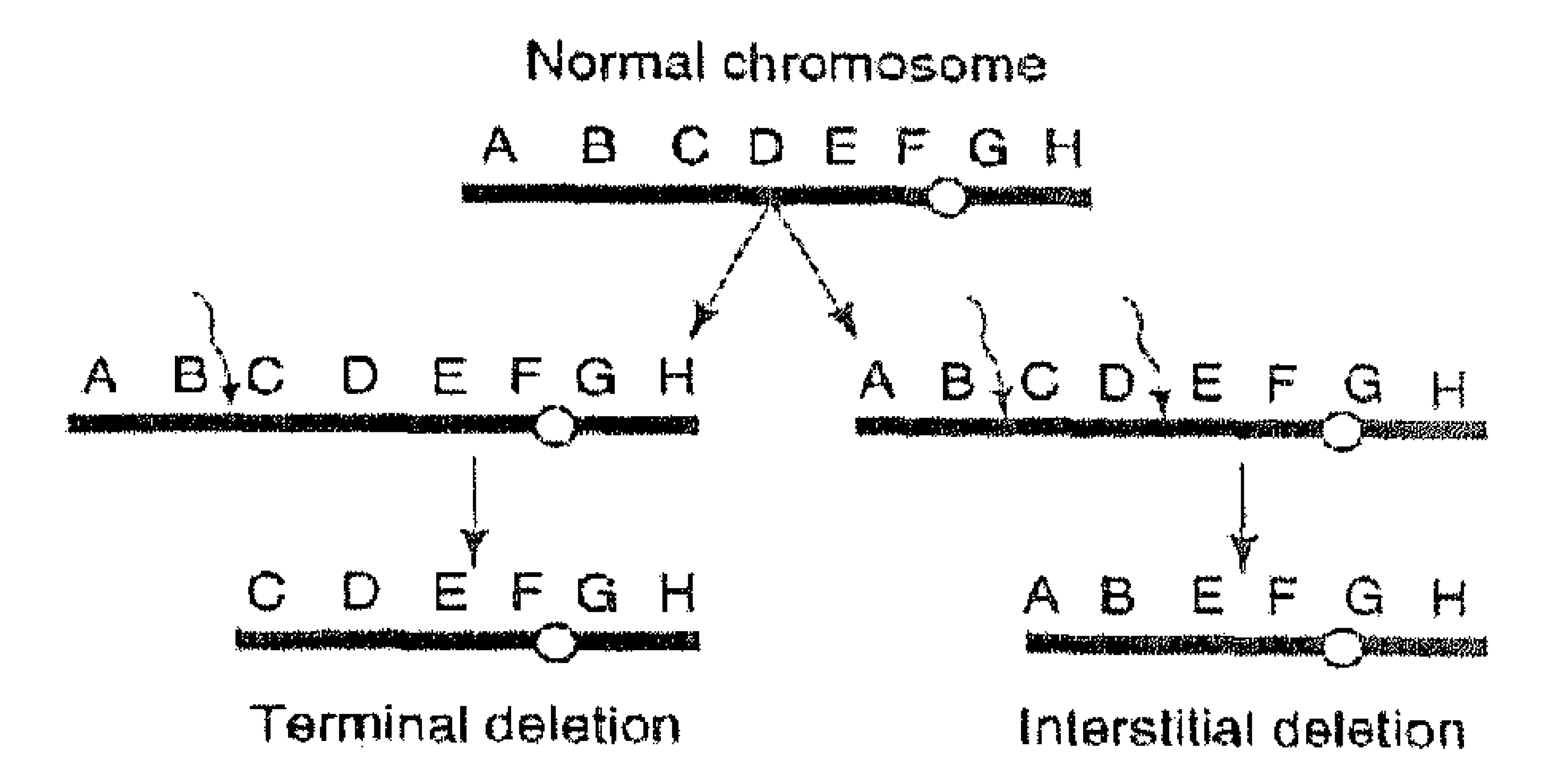
وتشتمل على :

أ-النقص.   ب -التكرار.   ج-الإنقلاب.   د- الإنتقال.

جميع هذه التغيرات تكون أصيلة أو خليطة وما نركز عليـــه هـــو التغيـــرات الخليطة حيث إن الأصيلة لم تسبب أى مشكلة فى إقتران الكروموســـومات أثنـــاء الإنقسام الإختزالى .

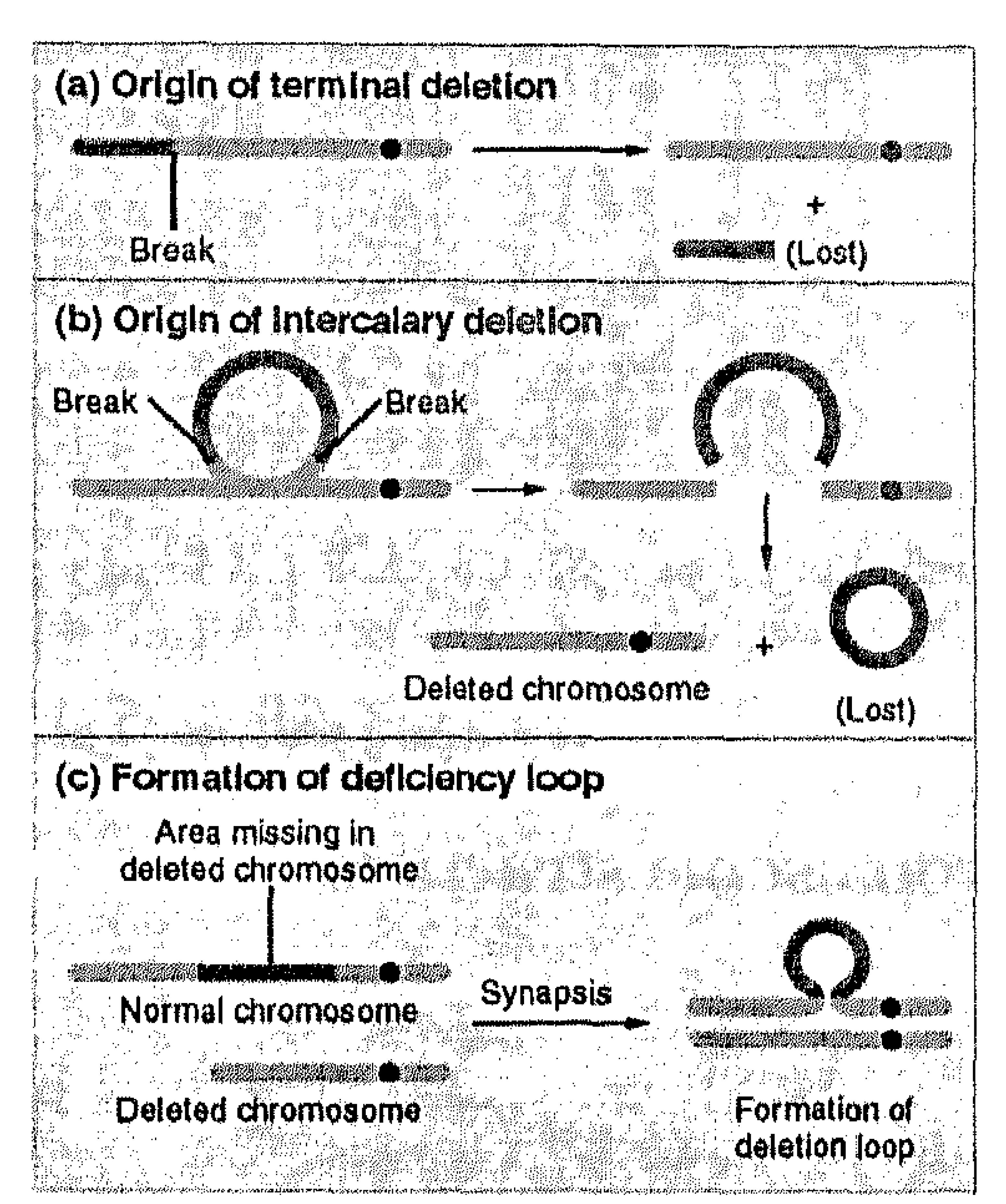
أ- النقص :

Deficiencies or Deletion



شكل رقم ٤٤ : النقص الكروموسومي الوسطى والطرفي

النقص قد يكون طرفى وينتج عن كسر واحد فى الكروموسوم أو يكون وسطى (شكل ٤٤) وينتج عن كسرين فى الكروموسوم ويؤثر ذلك على الفـرد الحامـل للنقص ويمكن التعرف على النقص سيتولوجيا بظهور العروة loop (شكل ٤٥) .

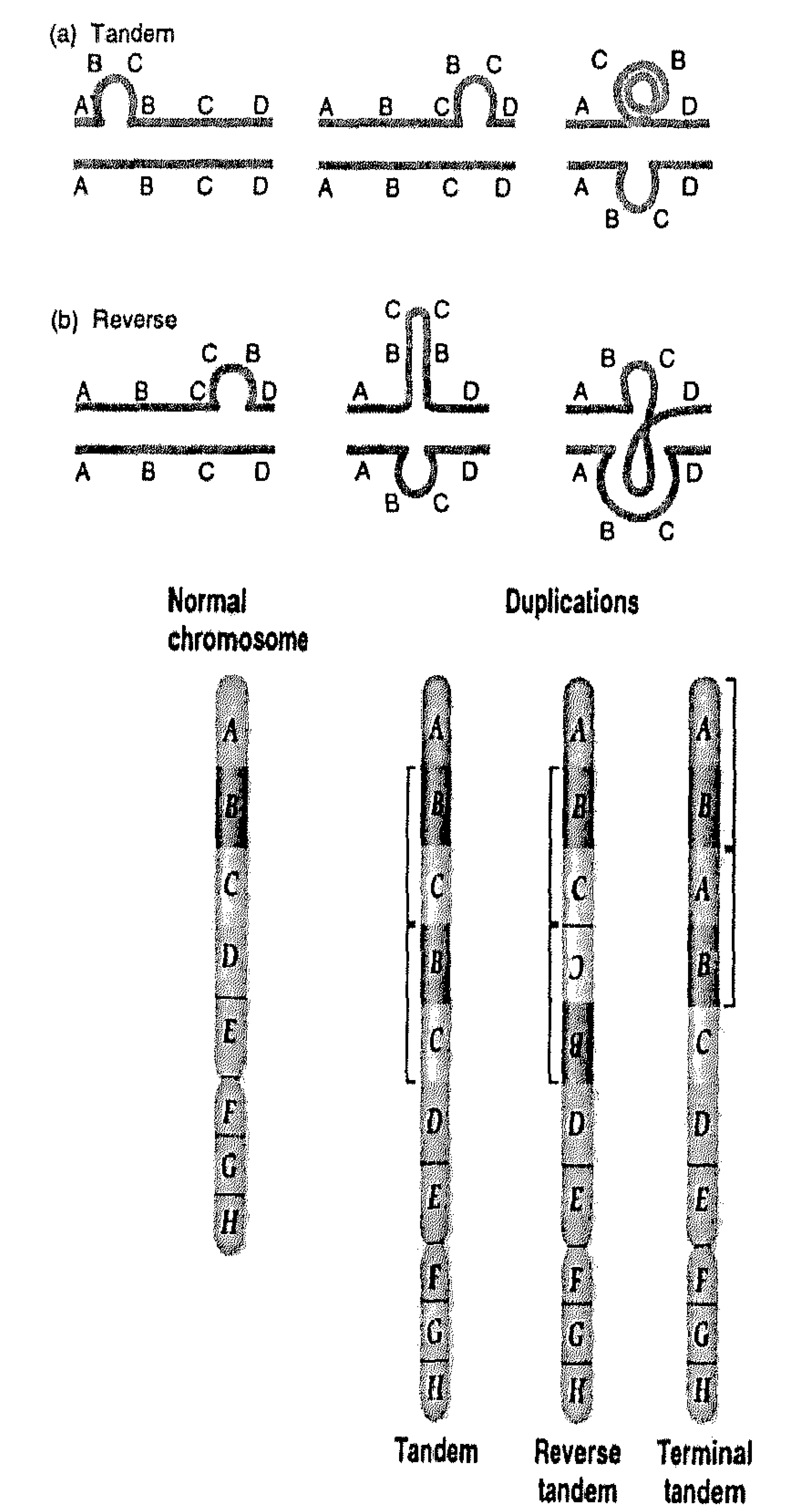


شكل رقم ٤٥ : يوضح الآثار السيتولوجية المترتبة على النقص

ب- التكرار :

Duplication

ويشمل إضافة قطعة كروموسومية تكون بنفس الترتيب الموجود على الكروموسوم الأصلى أو بترتيب عكسى على نفس زراع الكروموسوم أو على الزراع الأخر أو قد تضاف إلى مكانٍ آخر فى الهيئة الكروموسومية، ويمكن التعرف على التكرار الخليط سيتولوجياً عن طريق العروة Loop (شكل رقم ٤٦).

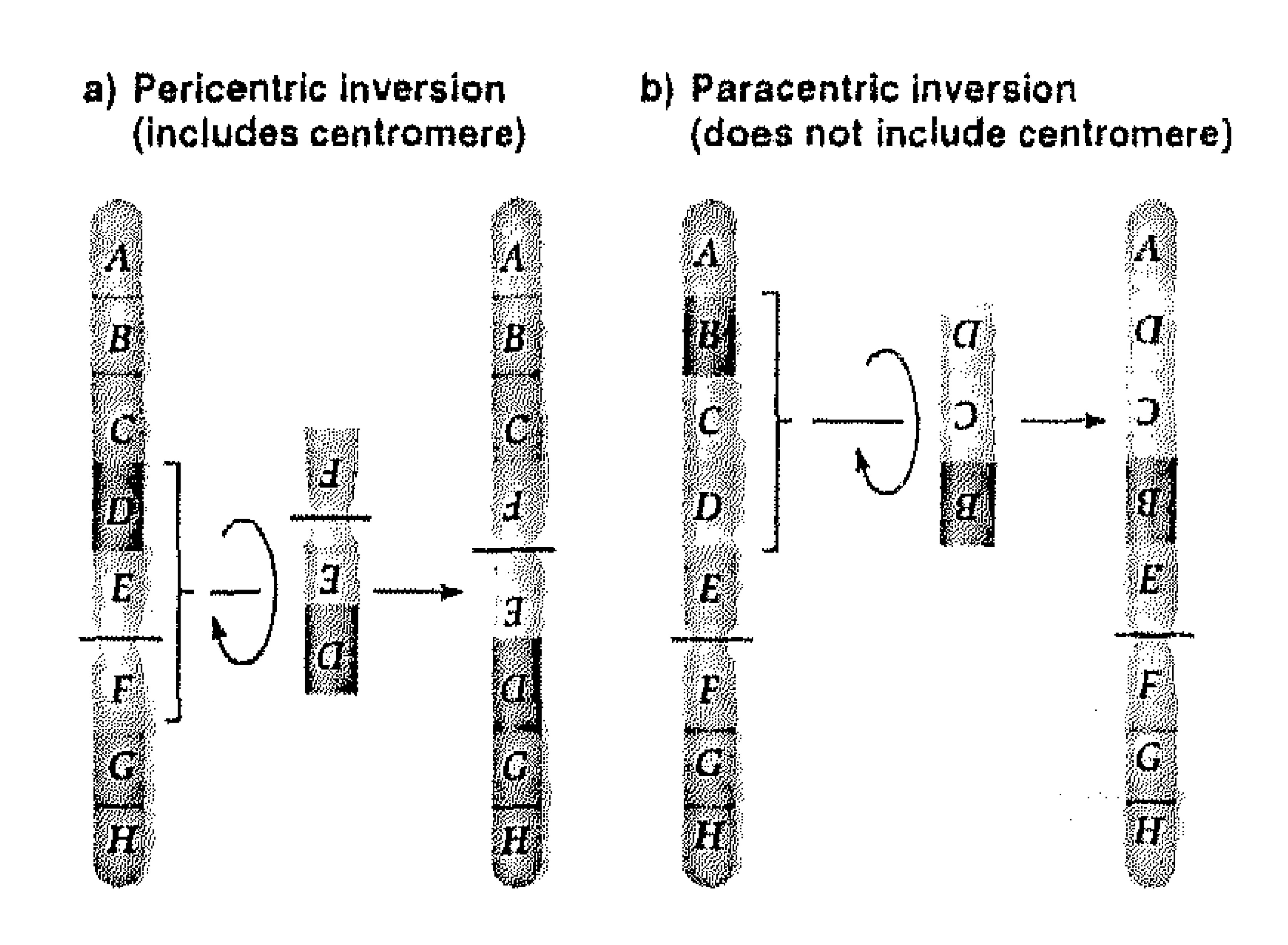


شكل رقم ٤٦ : يوضح الأثار السيتولوجية المترتبة على التكرار

ج- الإنقلاب :

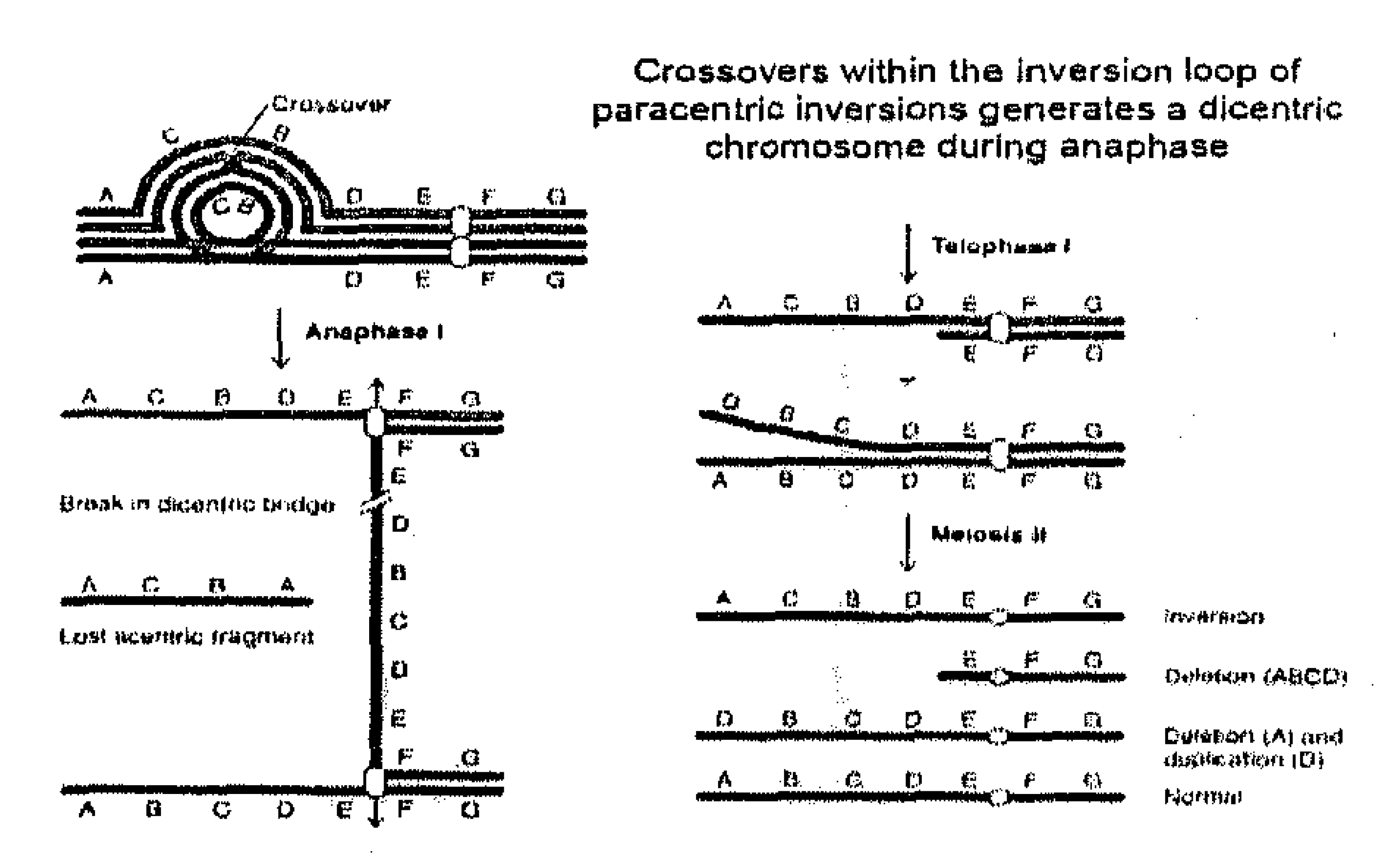
Inversion

حدوث كسر فى الكروموسوم ودوران القطعة المكسورة حول نفسها بزاوية مقدارها ١٨٠درجة وبالتالى يتغير ترتيب الجينات و قد يشمل الانقلاب منطقة السنترومير Pericentric inversion أو لايشمل منطقة السنترومير paracentric inversion (شكل رقم ٤٧).



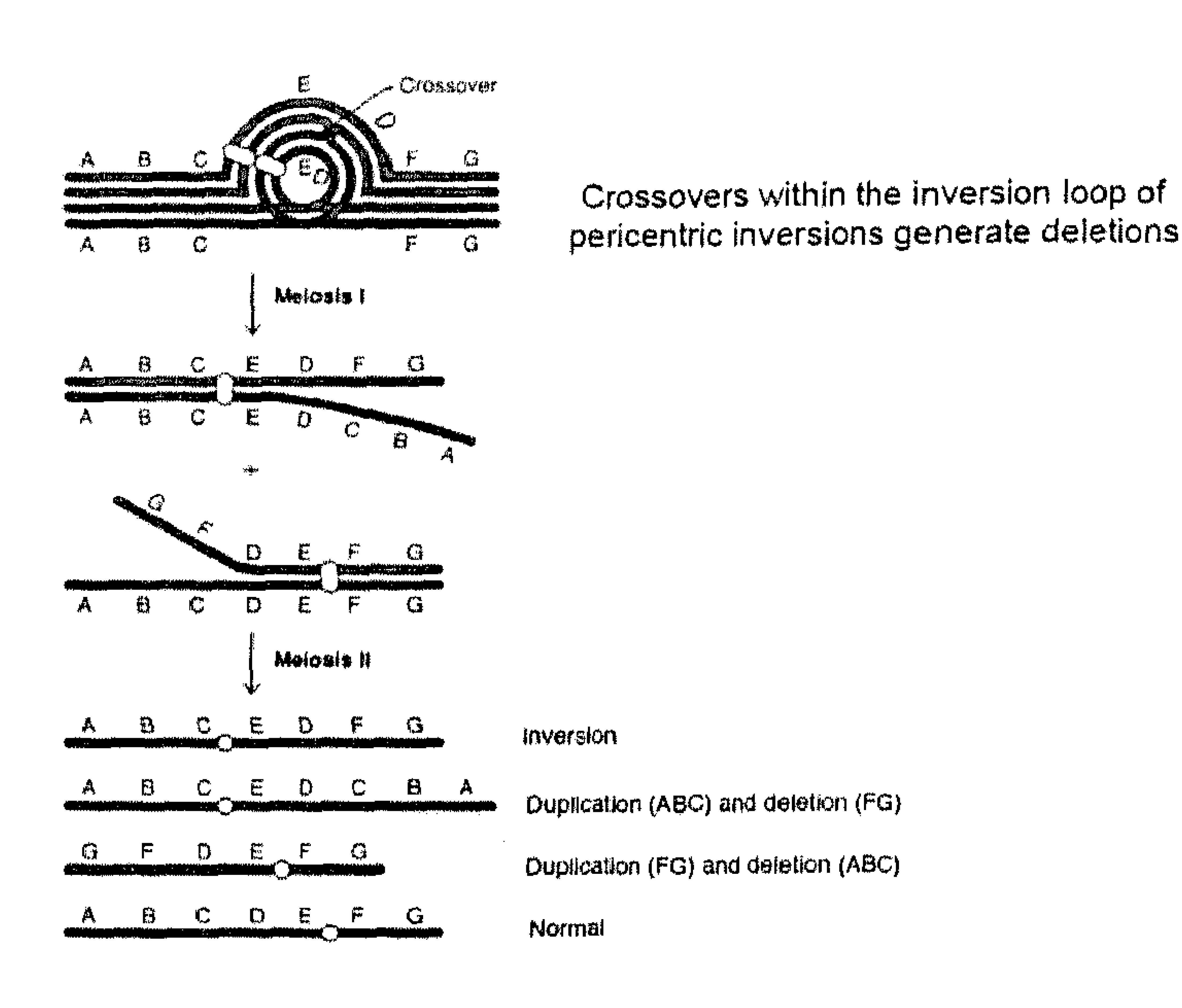
شكل رقم ٤٧ : يوضح الصور المختلفة للإنقلاب الكروموسومي

ففى حالة الانقلاب الذى لايشمل السنترومير يمكن التعرف عليه أثناء الإنقسام بظهور العروة loop ، وعند حدوث العبور بين أى كروماتيدتين يتكون كروموسوم ذو سنتروميرين Dicentric chromosome وكروموسوم به إنقلاب وشطية كروموسومية (شكل رقم ٤٨) .



شكل رقم ٤٨ : يوضح الأثر السيتولوجي المترتب على الإنقلاب الكروموسومي

أما الإنقلاب الذى يشمل السنترومير فيمكن التعرف عليه كذلك عن طريق العروة loop . وبحدوث العبور داخل القطعة المنقلبة فتكون المحصلة هو الحصول على كروموسومات تحتوى على نقص وتكرار وكروموسوم عادى وأخر به إنقلاب (شكل رقم ٤٩) .



شكل رقم ٤٩ . يوضح النتائج المترتبة على حدوث عبور وراثي داخل منطقة الإنقلاب وأثر ذلك على التركيب الكرموسومي فى الجاميطات الناتجة

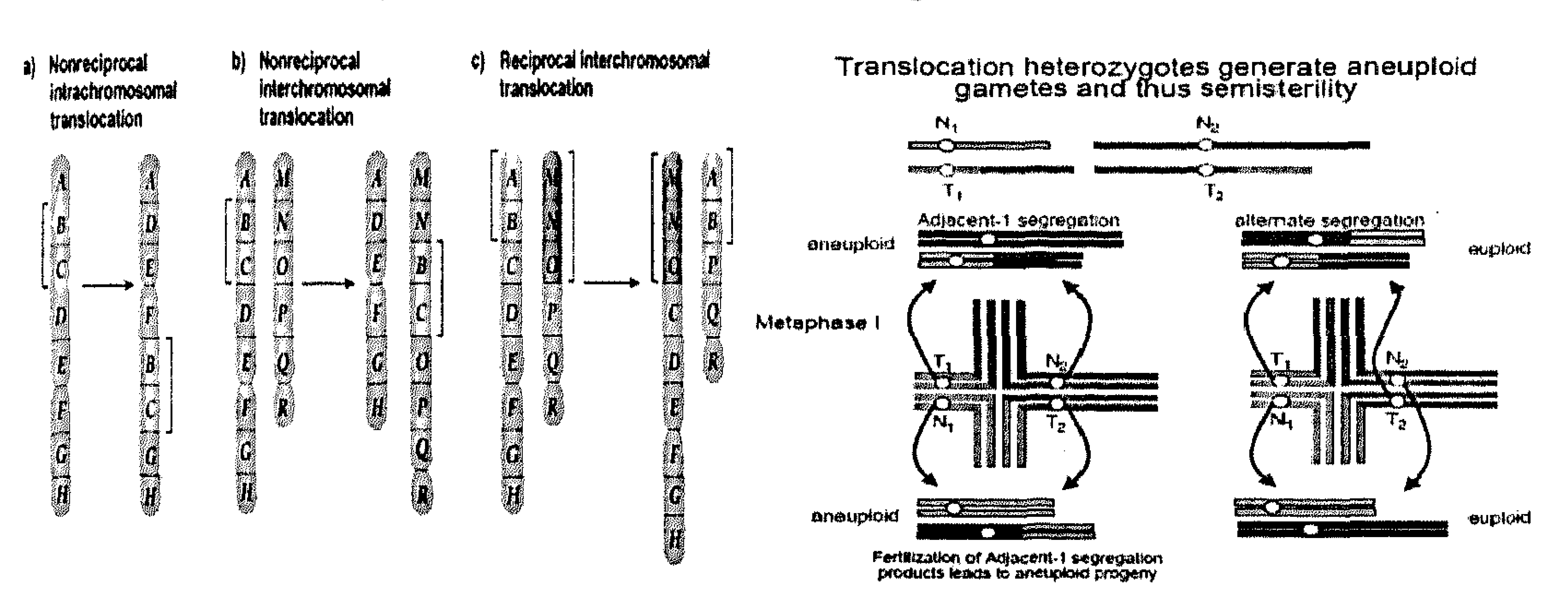
د- الإنتقال :

Translocation

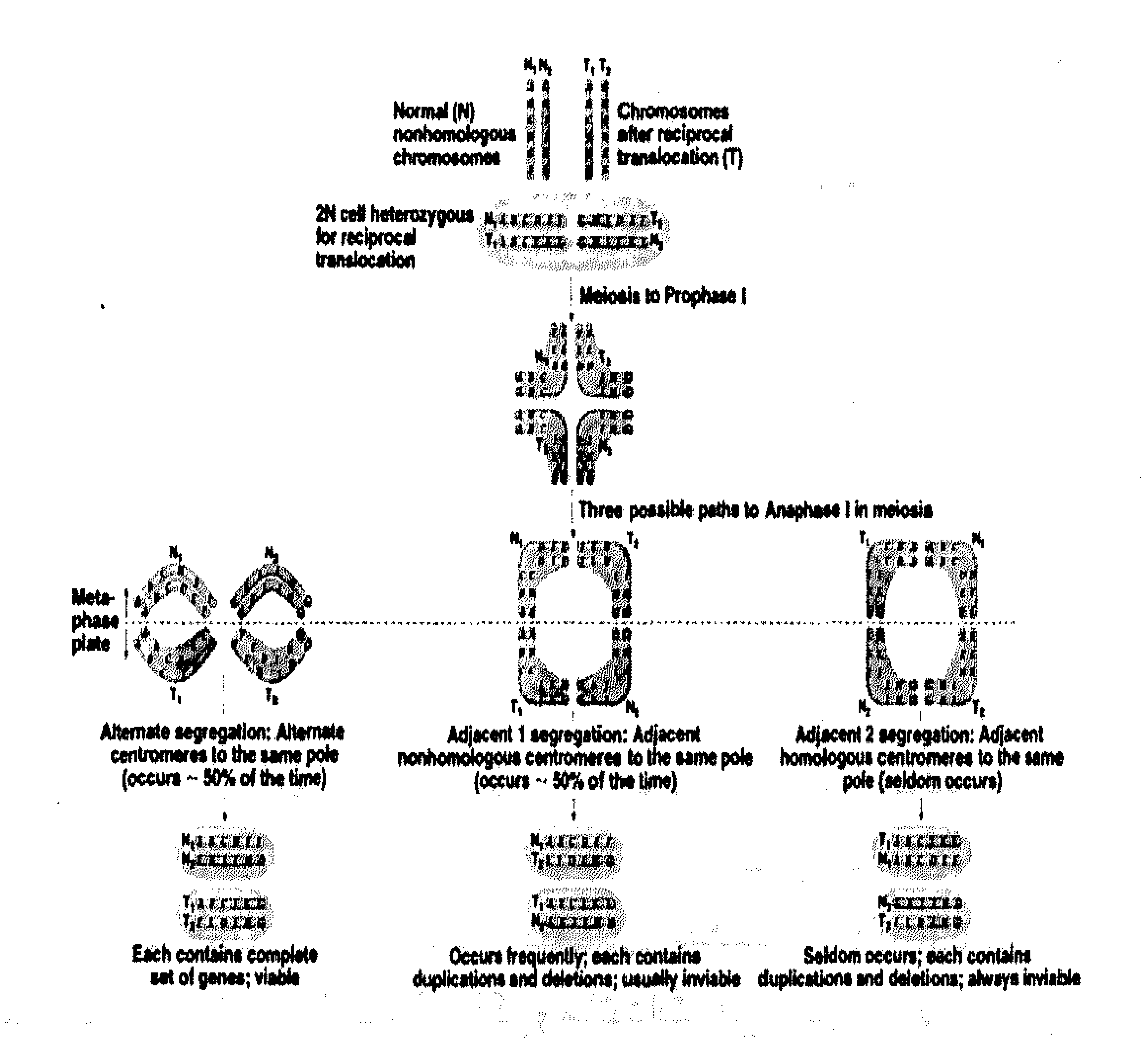
إنتقال جزء من كوموسوم إلى كروموسوم آخر غير نظير ويرتبط به، ويمكن التعرف عليه من تغير المجموعة الإرتباطيه وظهور الشكل الصليبىأثناء الدور الضام فى الإنقسام الميوزى ويسمى إنتقال عكسى Reciprocal translocation وتكون المحصلة النهائية لإنفصال الكروماتيدات فى الدور الإنفصالى كالآتى :

إذا كان الإنفصال متجاور adjacent (فى الشكل الصليبى) للكروموسومات II, I فالنتيجة هى الحصول على جاميطات غير حية بها نقص وتكرار للجينات .

أما إذا كان الإنفصال متبادلalternate فالمحصلة هى الحصول على جاميطات حية تحتوى كل جاميطة على جميع الجينات (شكل رقم ٥٠، ٥١) .



شكل رقم ٥٠ . يوضح الأنواع المختلفة للإنتقال الكروموسومي والأثار السيتولوجية المترتبة عليه عند إقتران الكرموموسومات فى الإنقسام الميوزي



شكل رقم ٥١ . يوضح الأثار السيتولوجية للإنتقال الكروموسومي عند إقتران الكرموموسومات فى الإنقسام الميوزي

ثالثاً: تغير فى الجين (الطفرة الجينية) :

Point mutation

الطفرة هى المصدر الأساسي لجميع الإختلافات الوراثية ؛ أى أنها توفر المادة الخام اللازمة لحدوث الإنتخاب الطبيعي والتطور . فالإتحادات الجديدة التى تحدث نتيجة العبور أثناء الإنقسام الإختزالى تقوم بإعادة ترتيب التباين الوراثى فى تباديل وتوافيق جديدة ، والإنتخاب الطبيعى (أو الصناعى) يحافظ على التراكيب الأكثر تكيفاً مع الظروف البيئية الموجودة (أو المرغوبة) ، ولولا الطفرة لوجدت كل الجينات فى صورة واحدة ، وبالتالى لما وجدت الأليلات ولما كان التحليل الوراثى ممكناً . والأهم من ذلك هو كون الكائنات القادرة على التطور أن تتكيف مع الكائنات القادرة على التطور evolve وأن تتكيف مع التغيرات البيئية. والطفرة على ذلك ظاهرة هامة، فمن الضرورى وجود قدر من الطفور يؤدى إلى التباين الوراثى ويسمح للكائنات بالتكيف مع البيئات الجديدة. وفى نفس الوقت قد يؤدى إزدياد معدل الطفور إلى عدم إنتظام disrupt إنتقال المعلومات الوراثية بدقة من جيل إلى آخر .

الطفرة التلقائية والمستحدثة :

Spontaneous Versus Induced Mutation

الطفرة التلقائية هى الطفرة التى تحدث بدون سبب معلوم . وهى قد تكون تلقائية وناتجة عن أخطاء التمثيل الغذائى التى تحدث طبيعياً فى تناسخ الـ DNA بمعدل ضئيل ، أو قد تكون ناتجة عن عوامل مطفرة موجودة بالبيئة . والطفرات المستحدثة هى التى تنتج عن تعرض الكائنات لعوامل مطفرة كالأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجيةUV ومختلف الكيماويات التى تتفاعل مع الـ DNA أو RNA فى حالة الفيروسات المحتوية عليه) . والواقع أنه من المستحيل إثبات أن طفرة معينة قد حدثت تلقائياً أو أن طفرة أخرى قد استحدثت بواسطة عامل ما .

وقد دعمت العلاقة المباشرة بين UV و DNA حيث وجد أن البيريميدينات (الثيامين والسيتوزين)لها قدرة إمتصاص خاصة لموجات UV حيث يحدث للسيتوزين هيدرة hydrated بواسطة UV بدخول جزيئات الماء المزدوجة لذرتي الكربون c=c كما فى الشكل التالى (شكل رقم ٥٢) .

شكل رقم ٥٢ : يوضح تأثير أشعة الـ UV على القاعدة الأزوتية سيتوزين

وكذلك فان الرابطة المزدوجة فى الثيامين يحدث لها أيضا إستبعاد disrupted وقد تتحد قاعدتين من الثيامين معا لتكون ثنائيات كما فى الشكل التالى (شكل رقم ٥٣) .

شكل رقم ٥٣ : يوضح تأثير أشعة الـ UV على القاعدة الأزوتية ثيامين

وفى الدراسات المعملية تدعم معظم الملاحظات فكرة حدوث الطفرات التلقائية بمعدل ثابت ولكنها تتعدل بعض الوقت. والأدلة على ذلك كثيرة فى التجارب الخاصة بتأثير الموقع حيث يحدث نشاط طفرى من خلال تغير بسيط فى موقع الجين، وكذلك فى حالة النقص والإنقلابات فى المادة الوراثية التى لا يمكن مشاهدتها سيتولوجياً مع إمكانية تميزها عن الطفرات العاملية. وقد أُجريت إختبارات لمعرفة أن الإشعاعات المؤينة هى التى تؤدى حقيقةً إلى تكون الطفرات العاملية أو الجينية gene or point mutions وذلك بإيجاد الظروف التى تؤدى إلى ظهور طفرات تقدمية Forward بواسطة الإشعاعات المؤينة، تستطيع الطفرات أن ترتد أيضا إلى الطراز البرى بهذة الأشعة، ونتيجه لهذا الجدل فإن التغيرات الكروموسومية لا يمكن أن ترتد أو تنعكس حتى أن المشععات الجديدة لا يمكن أن

تكمل ما حدث من نقص أو أن تعيد الشظايا للإلتحام ولكن الذى يحدث فقط هو إعادة تنظيم أو ترتيب المادة الوراثية التى لم يحدث لها تلف أو تغيير مكانها فى حالة الطفرات العاملية point mutation ولكن هذا النوع لا يوجد حقيقة فى الدروسوفلا ولكنه لوحظ فى النيوروسبورا والبكتريا والخمائر .

وتدل هذه الملاحظات على أن الإشعاع قد يؤدى إلى تأثيرات وراثية صغيرة عكسية بالإضافة إلى التغيرات الكروموسومية غير المرتدة، مما سبق يمكن أن يقال أن نظرية الهدف target theory(التأثير المباشر للإشعاع يكون على الـDNA) لا تكفى وحدها لتفسير التأثيرات التى تحدثها الأشعة ولكن فيسيولوجيا الخلية والحالة الكروموسومية ودرجة الحرارة وضغط الأكسجين كلها من العوامل التى تساعد علىإستخدام الطفرات، وبالإضافة إلى ذلك فإن موقع الجين على الكروموسوم بالنسبه للإصابة بالإشعاع له أهمية كبيرة حيث لوحظ أن معدل التغيرات الكروموسومية يزداد فى بعض المواقع القريبه من منطقة السنترومير The Centromerel region عن مواقع أُخرى وقد لوحظ أن تأثير معاملة الخلايا بالطرد المركزى أثناء الإشعاع يبدو أنها تمنع إعادة الإلتحام وتزيد عدد الكسور. ويؤدى الكولشيسين كذلك إلى التأثير على التحرك الكروموسومى نتيجة عدم تكون خيوط المغزل . وقد دلت الدراسات المعملية أن عملية الإتحاد بين جزئين من الثيامين dimerization قد تكون التأثير الطفرى الأولى الناتج عن مثل هذه الثنائيات التي قد تؤثر على سلوك حلزون DNA وبالتالي تؤثر فى عملية التكرار . وبخلاف التأثير المباشر على الـ DNA فهناك إحتمال لأن تحدث تأثيرات أخرى غير مباشرة بواسطةUV من خلال إمتصاص المكونات الوسيطة ، فمثلا يزيد معدل الطفور فى بكتريا *Staphylococcus aurous*، وعند تعريض مزرعة من البكتريا لأشعة UV تزيد معدل الطفور، ومن ناحية أُخرى فإن وضع البكتريا المعاملة بالإشعاع فى مركب يمنع تكوين البروتين Chloramphenicol يؤدى إلى نقص معدل الطفور. ومن هذا يتضح أن UV تعمل على نشاط كل منDNA والأنزيمات مما يؤدى بالتالي إلى حدوث طفرات .

والطفرات التلقائية نادرة الحدوث ، برغم أن تكرارها يختلف من جين إلى آخر ، ومن كائن إلى آخر . وتتراوح قياسات تكرارات الطفرات التقدمية التلقائية لمختلف الجينات فى البكتريا والفاج بين ١٠-٨ و ١٠-١٠ لكل زوج من أزواج النيوكليوتيدات فى الجيل الواحد . وفى حقيقيات الأنوية ، يتراوح معدل الطفرات

التقدمية بين ١٠-٧ و ١٠-٩ لكل زوج من النيوكليوتيدات فى الجيل .تزيد المعاملة بالمطفرات تكرار الطفرات بدرجات كبيرة . فتكرار الطفرات لكل جين per gene فى البكتريا والفيروسات على سبيل المثال يتعدى ١% عند المعاملة بمطفر كيماوى قوى. أى أن مايزيد على ١% من جينات الكائنات المعاملة ستتضمن طفرات ، أو بصورة أخرى يمكن أن نقول أن أكثر من ١% من أفراد عشيرة الفيروسات أو البكتريا المعاملة ستحتوى على طفرة فى أى جين .

التأثيرات المظهرية للطفرات :

Phenotypic Effects of Mutations

تؤدى الطفرات إلى بعض التغيرات المظهرية phenotypic changes التى يمكن إكتشافها حتى يتسنى التعرف على وجودها . ويتروواح تأثير الطفرات مابين التغيرات متناهية الصغر والتى لايمكن إكتشافها إلا بتقنيات وراثية وبيوكيماوية خاصة، وبين تحورات كبيرة فى الشكل الظاهرى ، إلى أن تصل إلى درجة موت الأفراد الحاملة لها . والجينات عبارة عن تتابع معين من أزواج النيوكليوتيدات يشفر كل منها إلى نوع معينٍ من السلاسل عديدة الببتيد . وأى طفرة تحدث فى جين معين تنتج بالتالى شكلاً جديداً أو أليلاً جديداً new allele لهذا الجين . وبسبب تعدد الشفرات للحامض الأميني الواحد بعض التغيرات فى أزواج القواعد لا تؤدي إلى تغيرالناتج البروتينى الذى تشفر له الجينات(طفرات لها نفس المعنى samesense mutations). والجينات التى تحتوى على طفرات تؤدى إلى تأثيرات صغيرة لا يمكن تميزها إلا بطرق خاصة تسمى الأليلات المتشابهة Iso alleles بينما تؤدى طفرات أخرى إلى فقد كامل فى نشاط الناتج الجينى، وإذا ماحدثت طفرات من الطراز الأخير فى جينات أساسية (الجينات اللازمة للحيوية) فإنها تكون مميتة بالطبع. والطفرات قد تكون متنحية أو سائدة ففى الكائنات الأحادية haploid مثل الفيروسات والبكتريا يمكن إكتشاف كل من الطفرات المتنحية والسائدة كنتيجة لتأثيراتها المباشرة على مظهر الكائن الذى تنشأ فيه، حيث لا يمكن تحديد السيادة والتنحى فى البكتريا إلا بدراسة الكائنات الثنائية جزئياًpartial diploid وفى الكائنات الثنائية(أو المتضاعفة) لا تميز الطفرات المتنحية إلا عند وجودها فى الحالة الأصيلة ، وبالتالى فإن أغلب الطفرات المتنحية فى الكائنات الثنائية لا يمكن إكتشافها وقت حدوثها لأنها توجد فى الحالة الخليطة . ويستثنى من ذلك الطفرات المتنحية المرتبطة بالجنس لأنها تعبر عن نفسها فى الحالة النصفية شبه الأصيلة فى

الجنس متباين الجاميطات (ذكور الإنسان وذبابة الفاكهة وإناث الطيور) وبالتالى فإن الطفرات المتنحية المرتبطة بالجنس سوف تغير النسبة الجنسية ، لأن الأفـراد شبه الأصيلة الحاملة للأليل المميت لا تستطيع البقاء .

الطفرات الجسمية والجرثومية (الجنسية) :

Somatic and Germinal Mutations

قد تحدث الطفرات فى أى خلية وفى أى مرحلة من مراحل دورة الخلية. فإذا ما حدثت الطفرة فى خلية جسمية (كل الخلايا ما عدا خلايا التكاثر) والتى يمكنهـا أن تنتج خلايا مماثلة ، فإن التغير الطفرى سيكون ممثلاً فقط فى الخلايا الجسـمية الناتجة عن الخلية التى حدثت بها هذه الطفرة . فقـد نشـأ التفـاح "دليشـيوس" والبرتقال "أبوسرة" مثلاً كموزايك فى الأنسجة الجسمية. وقد حدثت التغيرات التى أدت إلى هذه النوعية المرغوبة فى خلايا مفردة . وفى كلا الحالتين تكاثرت الخلية الحاملة للجين الطافر حتى كونت فرعاً له هذه الصفات الخاصة بالطراز الطافر . ومن حسن الحظ فإن التكاثر الخضرى vegetative propagation كان ممكنـاً فـى هاتين الحالتين ، حيث يستمر تواجد الطفرتين فى النسـل النـاتج مـن الطعـوم والبراعم . وينتشر الآن نواتج هذين الطرازين الطـافرين فـى بسـاتين التفـاح والبرتقال. أما إذا كانت الطفرة فى الخلايا الجرثومية (الخلايا الجنسية) سائدة فإن تأثيرها يظهر مباشرة فى النسل . وإذا ما كانت الطفرة متنحيـة فـإن تأثيرهـا سيختفى فى التركيب الثنائى . وتتشابه الطفرات الجنسية مع الجسمية فى أنها قـد تحدث فى أى مرحلة من دورة التكاثر للكائن الحى ولكنها أكثر شيوعاً فى بعض المراحل عن الأخرى. فإذا ما حدثت الطفرات فى جاميطة ، نجد أن فرد واحد من النسل يحمل هذا الجين الطافر ، وعلى الجانب الآخر ، إذا ما وقعت الطفـرة فـى الخلايا الأولية Gonial cell فإننا نتوقع أن عدة جاميطات يمكن أن تسـتقبل هـذا الجين الطافر ، وبالتالى يزيد من إحتمال إستمرارية هذه الطفـرة وبـذا ، فـإن العوامل الرئيسية التى تساعد على إحتمال ظهور الطفرة فى الكائن الحى والعشيرة هما السيادة والمرحلة من دورة التكاثر للكائن الذى تقع فيه الطفرة .

الأساس الجزيئى للطفور :

The Molecular Basis of Mutation

وصف واطسون وكريك تركيب سلسلة الـ DNA المزدوجة وإفترضوا أن التناسخ يتم بالطريقة شبه المحافظ semiconservative المبنى على تكامل القواعد وذلك لتفسير عملية إنتقال المعلومات الوراثية من جيل إلى جيل ، وأفترضوا أيضاً ميكانيكية توضح الطفور التلقائى . وقد أستنتج واطسون وكريك أن تركيب القوّاعد ليس ثابتاً ، فذرات الأيدروجين تستطيع التحرك من وضع أو مكان معين فى البيورين أو البيريميدين إلى مكان آخر ، فمثلاً من مجموعة أمين إلى حلقة النتروجين. هذا التغير أو التردد الكيميائى يسمى التبادل المتردد tautomeric shifts (شكل رقم ٥٤). ورغم أن هذا النظام يعد نادراً . إلا أنه يمكن إعتباره مهماً فى بناء الـ DNA حيث أنه يغير أو يبدل نظام ازدواج القواعد المحتمل الوقوع. ومن المعروف أن الأدينين يرتبط مع الثيامين والجوانين يرتبط مع السيتوزين .

شكل رقم ٥٤ : يوضح الحالات الشائعة والنادرة للقواعد النيتروجينية المختلفة

إن شكل أو حالة الكيتو keto للثيمين والجوانين وحالة الأمينو Amino للأدينين والسيتوزين هى الأكثر شيوعاً وثباتاً وإن كانا يتحولا بقلة تبعاً لنظام التبادل المشابه إلى حالة الإينول Enol والإمينو Imino الأقل ثباتاً بالنسبة لكل منهما .

إن القواعد تبقى أو توجد لأقل فترة زمنية ممكنة فى صورة النظام المشـــابه الأقل ثباتاً . ولو أن قاعدة وجدت فى الشكل النادر فى اللحظة التـــى يوجـــد فيهـــا تناسخ أو إتحاد لسلسلة الـــ DNA القديمة فالنتيجة هى الطفور . وعنـــدما توجـــد القواعد فى حالتها النادرة الإمينو Imino أو الإنول Enol ، يمكن أن يحدث ازدواج قواعد الأدنين مع السيتوزين والجوانين الثيامين (شكل٥٥) .

Rare G-T base-pair

Thymine (common keto form)

Guanine (rare enol form)

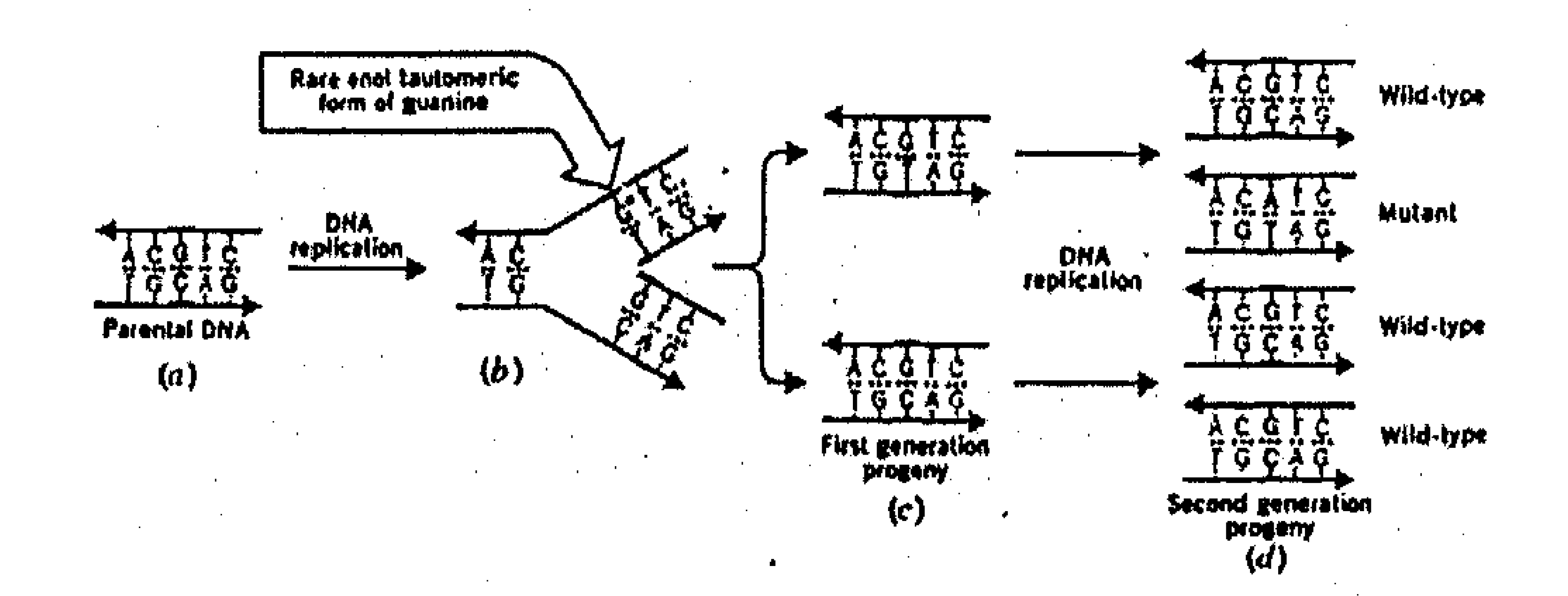
Rare A-C base-pair

Cytosine (rare imino form)

Adenine (common amino form)

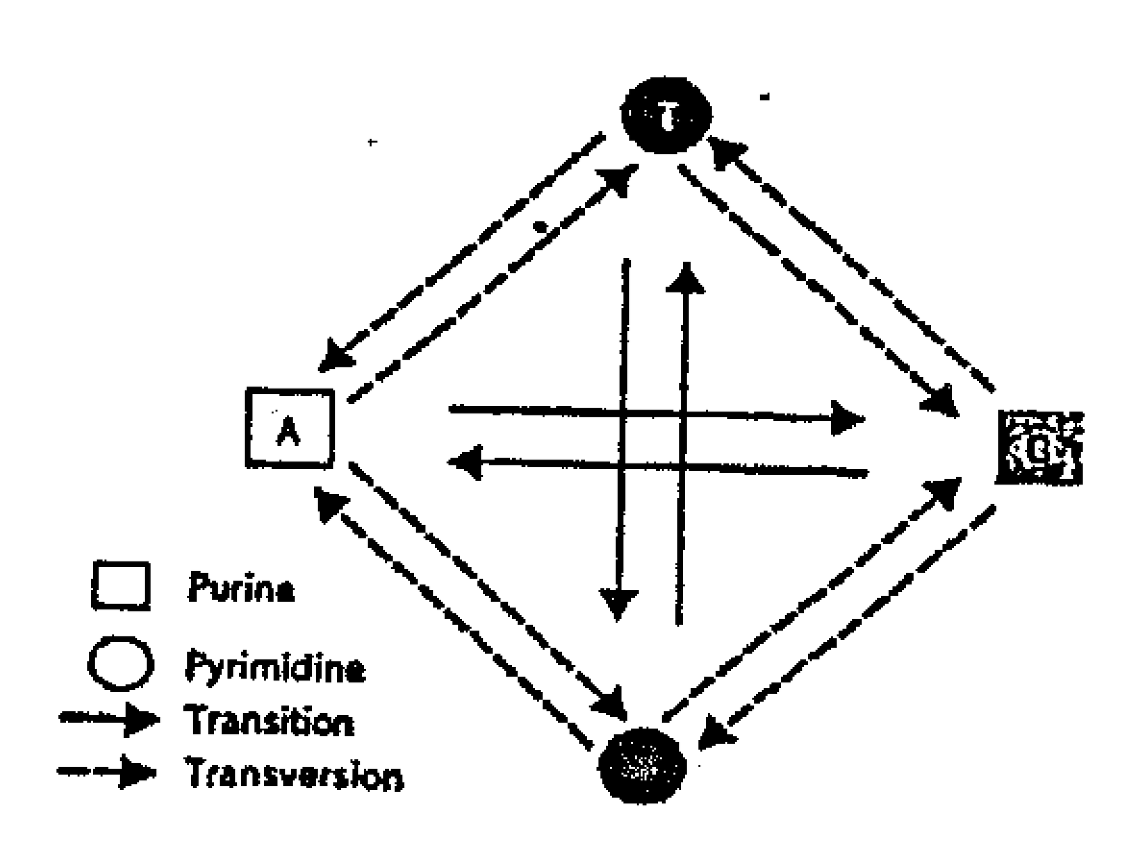
شكل رقم ٥٥ : أمثلة للإرتباط الخاطيء لأزواج القواعد النيتروجينية المختلفة الأدنين والسيتوسين ، الجوانين والثيامين

والتأثير الحقيقى لهذا التبادل المتردد بعد عمليات التناسخ المطلوبة هو إنعزال القواعد ذات الإزدواج الخاطئ mismatched ويؤدى ذلك إلى إبدال قواعد AT إلى GC أو GC إلى AT (شكل٥٦) .



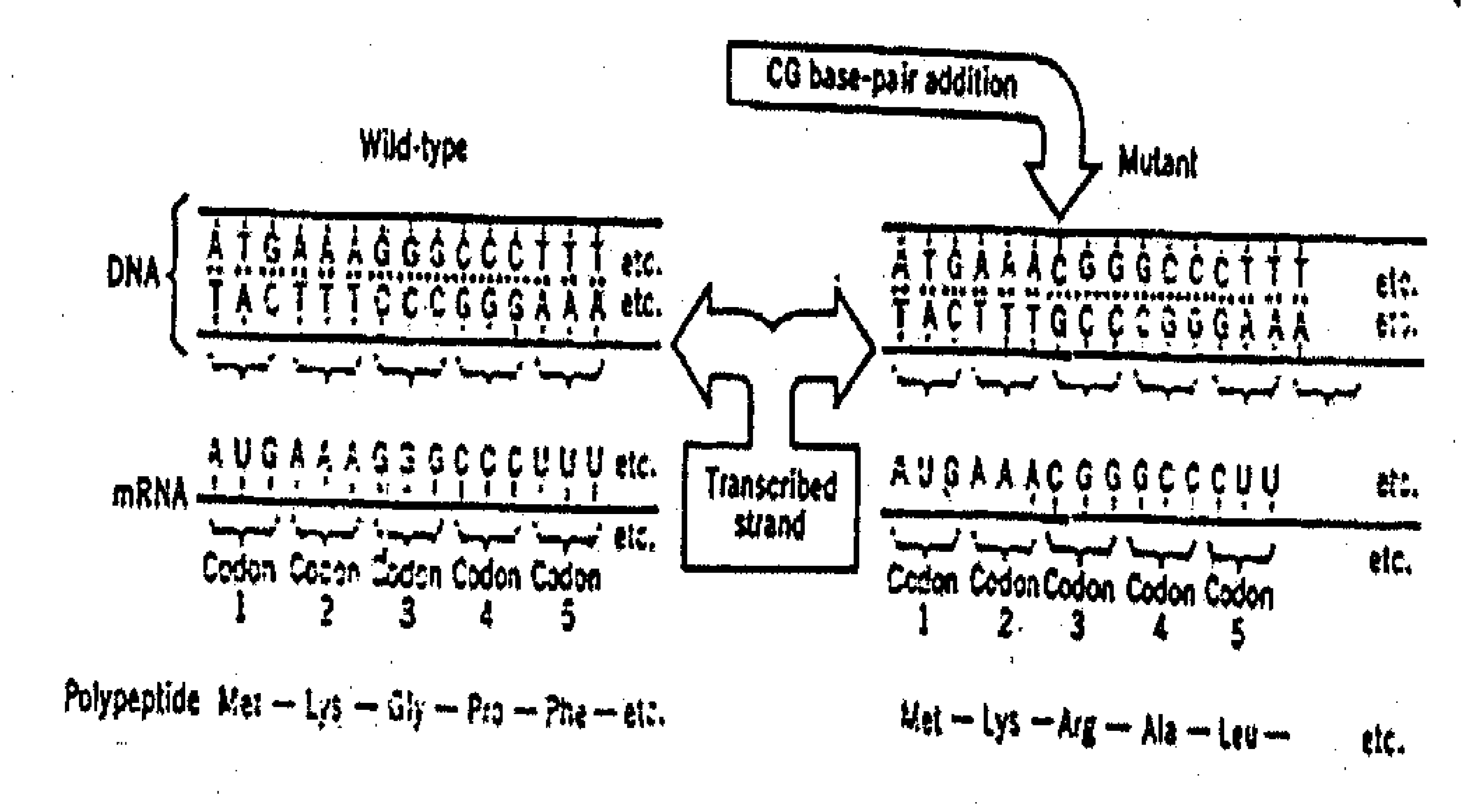
شكل رقم ٥٦ : أشكال الطفرات التى تحدث فى القواعد النيتروجينية للمادة الوراثية DNA

يحدث الطفور نتيجة التبادل المشابه فى قواعد DNA عن طريق إحلال أو إستبدال البيورين فى شريط واحد من الـ DNA بالبيورين الأخر وإحلال البيريميدين فى الشريط المكمل بالبيريميدين الآخر. إحلال مثل هذه القاعدة يسمى الإستبدال المتكافئ transitions . وإحلال قاعدة مستخدما البيورين للبيريميدين أوالعكس يسمى الإستبدال المتعاكس أو غير المتكافئ transversions . وتوجد أربع إحتمالات مختلفة للإستبدال المتكافئ وثمانى حالات مختلفة للإنتقال المتعاكس(شكل رقم ٥٧) .



شكل رقم ٥٧ : يوضح طفرات الإستبدال المتكافيء وغير المتكافيء المحتمل حدوثها فى DNA

وهناك طراز ثالث للطفرة الموضعية يتضمن إضافة أو فقد واحداً أو عدد قليل من أزواج القواعد. فإضافة أو فقد قاعدة جميعها تشير إلى طفرات تغيير الإطار frameshift mutations حيث تؤدى جميعاً إلى تغير طريقة قراءة إطار جميع ثلاثيات أزواج القواعد (حيث تتخصص الشفرات فى RNA الرسول والأحماض الأمينية فى ناتج الجين من عديد الببتيدات) فى موضع الطفور حتى نهاية الجين (شكل رقم ٥٨) .



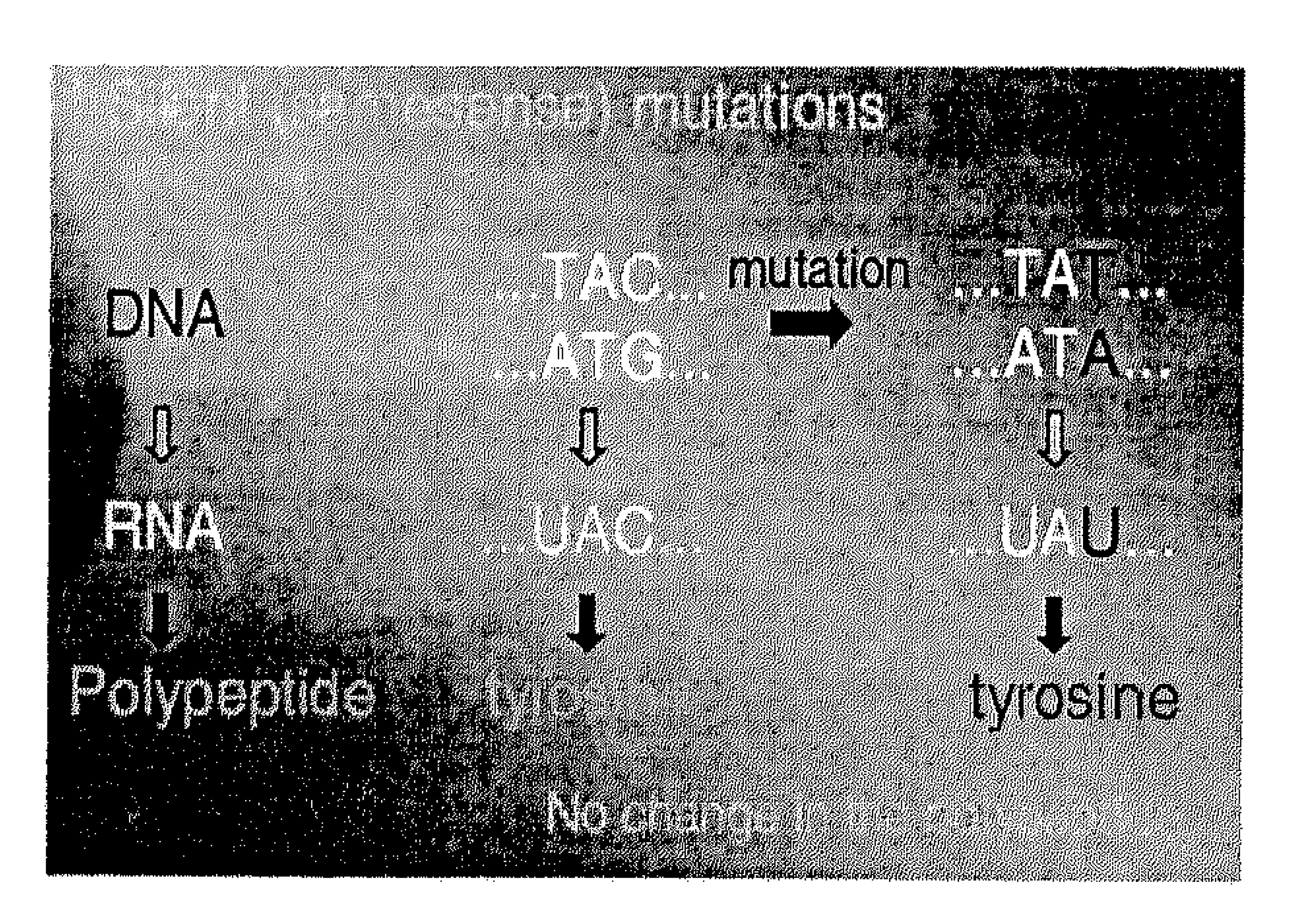
شكل رقم ٥٨ : يوضح رسم تخطيطى للطفور الناتج عن إضافة قاعدة واحدة مفردة إلى تركيب الجين

كل الطرز الثلاثة للطفرات الموضعية وهي طفــرات الإســتبدال المتماثــل ، الإستبدال المتعاكس وتغيير الإطار توجد بين الطفرات التى تحدث تلقائياً والمدهش أن نسبة كبيرة من الطفرات التلقائيــة المدروســة فــى الخلايــا أوليــة الأنويــة prokaryotes وجدت أنها تعزى إلى إضافة أو فقد قاعدة واحدة أكثر من رجوعهـا إلى إحلال القواعد. ويمكن تقسيم الطفرات كذلك إلى :

١- طفرات لها نفس المعنى :

Silent(samesenses) mutations

إذا حدث تغير فى قاعدة يعطى نفس الحامض الأمينى ولايتغير البروتين وذلك لأن الحامض الأمينى له أكثر من شفرة (شكل ٥٩) .

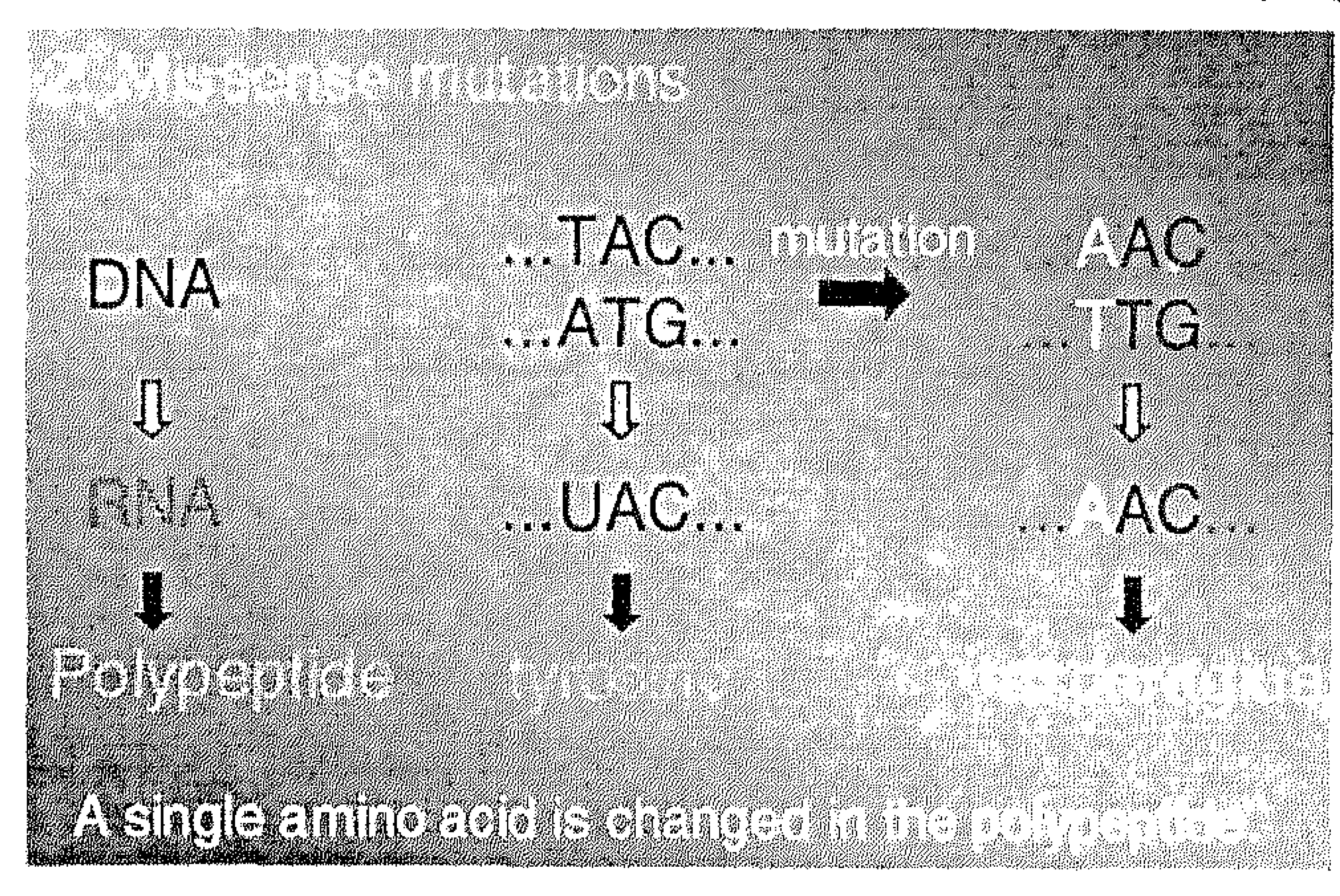


شكل رقم ٥٩ : طفرات لها نفس المعنى

٢- طفرات خاطئة :

Missense mutations

إذا حدث تغير فى قاعدة نتج عنه تغير فى الحمض الأمينــى فإنــه يتغيــر البروتين الناتج (شكل رقم ٦٠) .

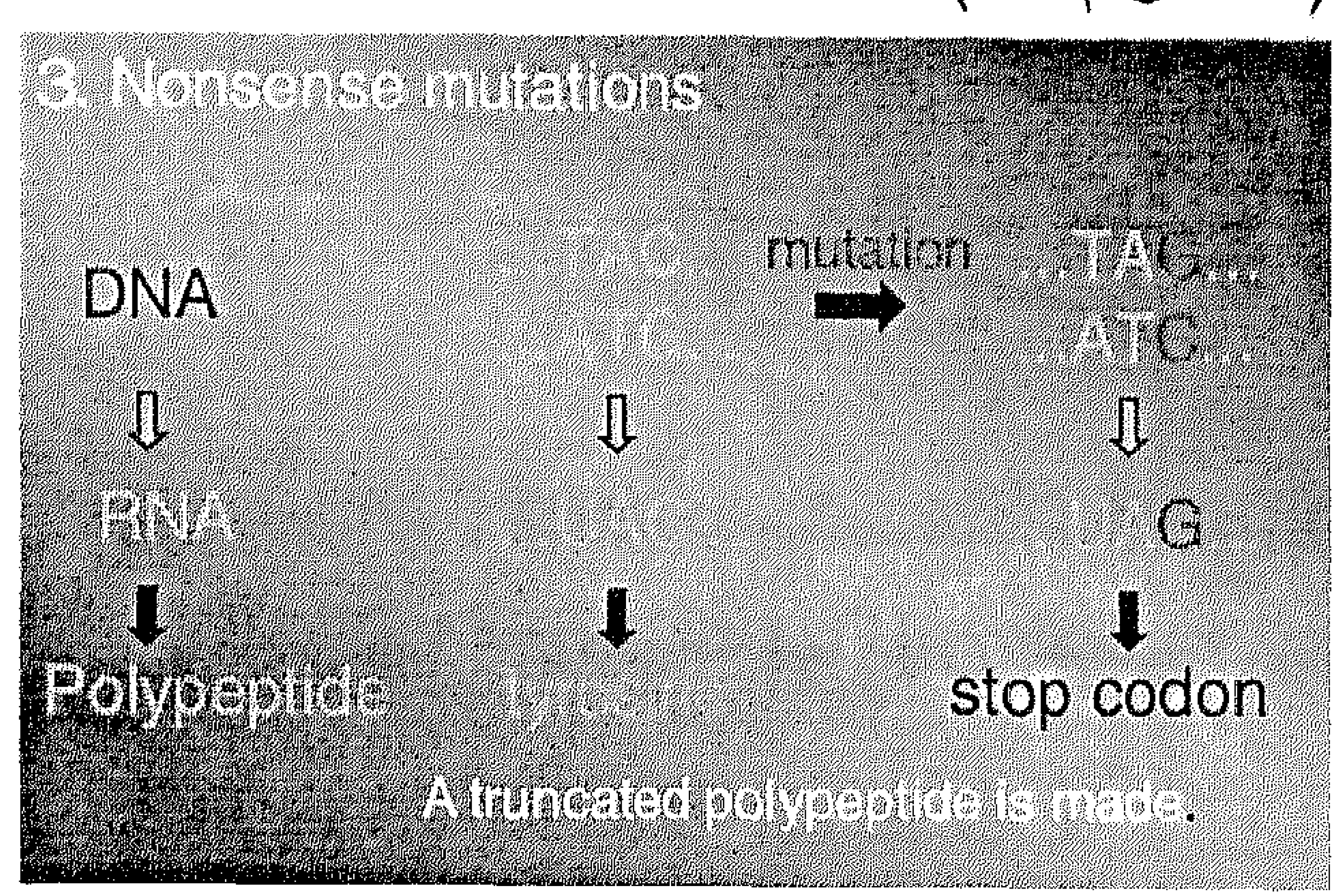


شكل رقم ٦٠ : طفرات خاطئة المدلول

٣- طفرات عديمة المعنى :

Nonsense mutations

إذا حدث تغير فى أى قاعدة لاتترجم إلى حمض أمينى فإنه بالتالى يتم توقف عملية الترجمة (شكل رقم ٦١) .



شكل رقم ٦١ : طفرات عديمة المعنى

الخلاصة :

الطفرة هى عبارة عن تغير فجائى فى التركيب الوراثى للفرد وتحدث الطفرة إما تلقائيا أو مستحدثة نتيجة تعرض الكائن للأشعة أو المواد الكيماويـــة المحدثـــة

للطفرات، ونتيجة ذلك الحصول على مختلف الطفرات منها : التغيرات فى العـــدد الكروموسومى ويشمل التضاعف المنتظم والغير منتظم .

تغيرات فى تركيب الكروموسومات وتشمل (الـــنقص، التكـــرار، الإنقـــلاب، الإنتقال) تغير فى تركيب الجين (إما بفقد قاعدة أو زيادة قاعدة نتروجينية أو إحلال قاعدة محل أُخرى) وتحدث الطفرات فى أى مرحلة من مراحل نمو الكائن وقـــد تحدث فى الخلية الجسمية أو فى الخلية الجنسية .

الأسئلة :

١- عرف الطفرة ومارأيك فى الطفرات التى تحدث فى النبات ؟

٢- ما الفرق بين الطفرة التلقائية والمستحدثة ؟

٣- ما هو التأثير المظهرى للطفرات (أشرح ذلك) ؟

٤- قسم الطفرات إلى أقسامها المختلفة مع شرح إحداها بالتفصيل ؟

٥- وضح الأساس الجزئ للطفور ؟

٦- ما هى طرز الطفرة الجينية ؟

أجب بنعم أو لا :

أ- النباتات الرباعية دائما خصبة .

ب- الـــ aneuploidy نتيجة عدم إنفصال الكروموسومات فى الإنقسام الميتوزى .

ج- Missense mutation هى طفرات توقف عملية الترجمة .

د- 4n هو نبات رباعى المجموعة الكروموسومية .

هـــ- الطفرة الطبيعية تورث أما الصناعية لا تورث .

و- النباتات الناتجة من ال aneuploidy تكون خصبة .

ل- قد تحدث طفرة لا تغير من شكل الفرد .

الفصل الثاني

تطبيقات على التكنولوجيا الحيوية

في أمراض النبات

الأهداف : من المتوقع في نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على فهم الأسس الخاصة بكل مما يلى :

١- التكنولوجيا الحيوية .

٢- زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية .

٣- الطرق المستخدمة فى زراعة الأنسجة .

٤- زراعة الكالوس ، الخلايا المفردة،الخلايا المرستيمية ، ومزارع الإكثار الدقيق

٥- تنمية أو زراعة البروتوبلاستس ومعاملته بالطرق المختلفة .

٦- حقن البروتوبلاست بالفيروسات ودراسة تكاثر وفسيولوجية الفيروس .

٧- حقن البروتوبلاست بنواقل مهندسة وراثيا .

٨- إختيار النباتات المشتقة من البروتوبلاست المقاومة للإصابة المرضية والمقاومة لتوكسينات الكائن الممرض .

٩- حقن البروتوبلاست المصاب بالفيروس بمواد مضادة للفيروس .

١٠-نقل جين المقاومة إلي النباتات الغير متوافقة جنسيا .

١١-عمل مزارع المتوك لإنتاج نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية .

١٢-دراسة النتائج المتحصل عليها فى مصر .

١٣-التعرف على الهندسة الوراثية وأهميتها في أمراض النبات :

١٤-دور الفيروسات النباتية كعوامل ناقلة ،الفيرويدات والعناصر القادرة على التنقل .

١٥-تكاثر الجين Gene Cloning، تكاثر DNA متمم عن mRNA تكاثر الجينات من المجموعة الوراثية DNA، ناقلات الكلونة، أنزيمات القطع وأنزيمات الإلتحام .

المقدمة

تعرف التكنولوجيا الحيوية فى الإصطلاحات الحديثة بأنها المعالجة بالوسائل الميكانيكية والتحورات الوراثية ومضاعفة الكائنات الحية خلال طرق حديثة مثل مزارع الأنسجة والهندسة الوراثية مؤدية إلي إنتاج كائنات جديدة أو محسنة أو منتجات يمكن إستعمالها بطرق مختلفة .

ويغطى تعريف (منظمة الأغذية والزراعة) التكنولوجيا الحيوية، بمعناه الواسع، الكثير من الأدوات والتقنيات التى أصبحت مألوفة فى نطاق الإنتاج الزراعى والغذائى. أما بمعناه الضيق، الذى لا يراعى سوى تقنيات الـ (DNA) الجديدة، والبيولوجيا الجزيئية وتطبيقات الإكثار التكنولوجية، فيغطى طائفة من التكنولوجيات المختلفة، مثل معالجة الجينات ونقلها، وتنميط الـ DNA وإستنساخ النباتات والحيوانات..

تُبنى التكنولوجيا الحيوية علي الفهم الكامل للمادة الوراثية فى النبات وعلى إستعمال الطرق المختلفة في مزارع أنسجة النبات وعلى المقدرة في عزل وتعريف الجينات المتخصصة من أي نوع من أنواع النبات (الكائن الحي) وتنقل إلي كائن حي آخر .

إن التكنولوجيا الحيوية في النبات تجعل من الممكن إسراع تكاثر طرز النبات وتجعل من الإمكان إنتاج المنتجات النباتية المتخصصة صناعيا تحت ظروف مزارع الأنسجة .

ترتبط التكنولوجيا الحيوية في النبات إرتباطا وثيقا مع أمراض النبات بعدة طرق وإن أكثر الطرق وضوحا كما يلي :

١- إنتاج النباتات وذلك عن طريق سرعة تكاثر الطرز النباتية Clonal التي تؤدي الحاجة الكبيرة إليها، الحصول علي نباتات أم خالية من الكائن الممرض وما يتبع ذلك من وقاية النباتات الحية (الأبناء) من الكائنات الممرضة .

٢- النباتات المحولة وراثياً التي أضيفت لها الجينات عن طريق الهندسة الوراثية من المحتمل أن يظهر عليها عدم ثبات كبير أو عدم ثبات غير متوقع جهة بعض المجموعات من الظروف البيئية غير المتوقع التنبوء بها.

٣- تكون أداة النقل الرئيسية لإنتقال الجينات من النباتات المعطية إلي النباتات المستقبلة هي كائنات ممرضة نباتيا وبشكل خاص بكتريا التدرن التاجي *Agrobacterium turnefaciens* وفيروس موزايك القرنبيط .

٤- حدث تقدم كبير فى دراسة جينات النباتات ومقاومتها للمرض ودراسة جينات الكائنات الممرضة لمعرفة شدتها في الكائنات الممرضة بواسطة الهندسة الوراثية .

فمقاومة كثير من أمراض النبات أصبحت إما عن طريق زراعة جينات مقاومة في النبات بواسطة طرق الهندسة الوراثية أو عن طريق هندسة وراثة الكائنات الحية الدقيقة والتي بها يمكن الوصول إلي كائنات دقيقة تضاد أو تنافس كائن ممرض معين . فمعرفة طبيعة السلوك الوراثي لجينات العائل لمقاومة المرض بجانب دراسة جينات الشدة فى الكائنات الممرضة فإنه يساعد على إنتاج نسبة كبيرة من النباتات المقاومة للمرض بواسطة التكنولوجيا الحيوية لمقاومة أمراض النبات . والأمل كبير فى الحصول على نباتات مقاومة لنسبة كبيرة من الأمراض. ولذا سنلقى الضوء على كل من زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية .

زراعة الأنسجة :

Tissue Culture

لقد أصبح علم زراعة الأنسجة من أهم التقنيات الحديثة المستخدمة فى مجال الزراعة وذلك لما له من فوائد عديدة فى مواجهة المشاكل الزراعية على المستوى المحلى فى مصر وعلى المستوى العالمى. وقد حقق علم زراعة الأنسجة إنتشارا واسعا بين العلوم المختلفة التى تهتم بدراسة الكائن الحى ومراحل تطوره المتعاقبة

كما أنه ساهم فى تقدم العديد من الدراسات فى مجالات العلوم المتعددة والتى ليس بآخرها علم الهندسة الوراثية .

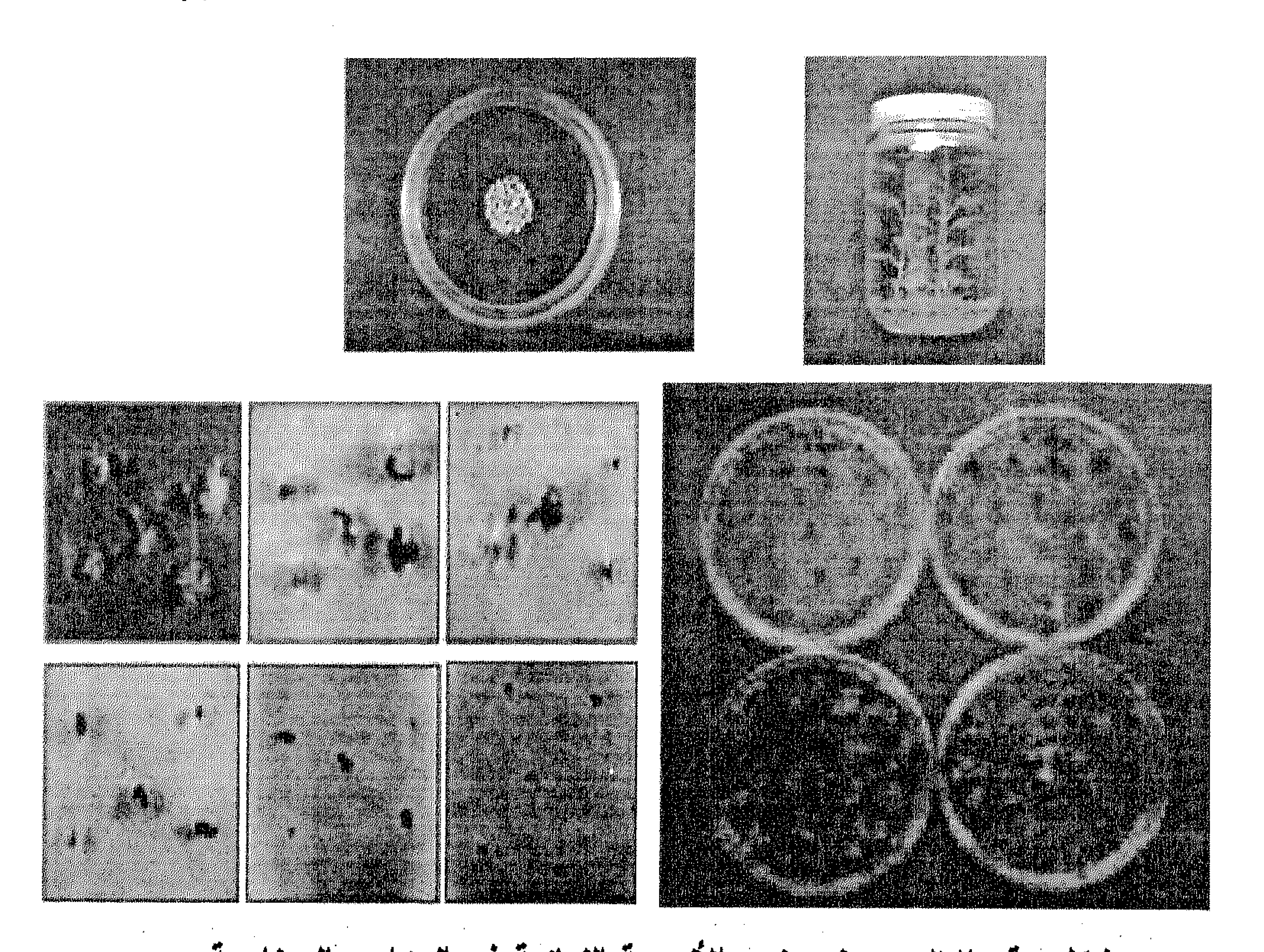
ما المقصود بزراعة الأنسجة :

يمكن تعريف زراعة الأنسجة النباتية بأنه علم يتألف من عدد من الطرق المختلفة لإنماء الأعضاء النباتية أو الأنسجة أو الخلايا على بيئات صناعية أمكن تركيب محتوياتها فى المعمل و يتم النمو فى ظروف متحكم فيها و قد شغل هذا العلم الجديد العديد من العلماء و الباحثين فى العالم خلال الثلاثين سنة الأخيرة وُأجريت العديد من الأبحاث الأكاديمية كانت من نتيجتها زيادة الفهم عن كيفية تمييز وكشف وتكوين الأعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة والمنماة فى البيئات الصناعية و أدت أيضاً إلى إبتكار العديد من الطرق الحديثة فى هذا المجال و أمكن توجيه تلك الأبحاث الأكاديمية لخدمة النواحي التطبيقية فى سبيل تطوير الإنتاج الزراعي والتغلب على العديد من المشاكل التي تواجه إنتاج تقاوي الحاصلات الزراعية الإقتصادية الهامة. وفى الوقت الحالى إنتشرت المعامل التجارية التي تستخدم أسلوب زراعة الأنسجة فى العديد من الدول المختلفة ومن بينها مصر التي لم تتخلف عن هذا الركب .

ما هى زراعة الأنسجة :

زراعه الأنسجه هى زراعه خلايا أو أنسجه أو أعضاء نباتية فى بيئات صناعيه ذات عناصر غذائيه معينه بغرض الحصول على نبات كامل (شكل رقم ٦٢) .

وزراعه الأنسجه النباتيه هى تقنيه تطبق منذ حوالى ثلاثون عاما. فهى تعتبر تكنولوجيا هامه للبلاد الناميه لإنتاج نباتات خاليه من الأمراض وعاليه الجوده ، كما تتميز بالإنتاج السريع لنباتات متماثله تماما .



شكل رقم ٦٢ : يوضح نمو الأنسجة النباتية فى المزارع الصناعية

فوائد زراعة الأنسجة :

١-إكثار النباتات التى يصعب إكثارها بالطرق المعتادة فى وقت قصير .

٢-تربية النباتات المرغوبة والحصول على طفرات أو هجن جديدة جيدة الصفات .

٣-الحصول على سلالات خالية من الفيروس .

٤-إستخدام الهندسة الوراثية بصورة أكثر سهولة بإدخال أو نقل صفات جيدة مرغوبة كمادة إلى نواة الخلية الأم .

ولا تقتصر أهمية علم زراعة الأنسجة النباتية على هذا فقط بل تمتد إلى أنها تعتبر الوسيلة الفريدة التى لم تكن فى متناول العلماء من قبل لدراسة فسيولوجيا النباتات والتطوير البيولوجى للكائن النباتى الحى من صور بسيطة إلى صور متراكبة معقدة البناء ولكنها متوافقة الوظائف .

تزداد أهمية هذا العلم مع التطور التكنولوجى وبخاصة الثورة العلمية الهائلة فى مجال الهندسة الوراثية التى تشمل التعرف الدقيق والمحدود على الجينات الوراثية التى تحكم سلوك وصفات الكائن الحى فى مراحل تطورة المختلفة وما يتلو هذا من محاولة تعديل التركيب الجينى ليتوافق مع البيئة التى يعيش فيها ولتتواءم مع رغبات الشعوب . وزراعة الأنسجة النباتية فى المعمل تحت ظروف خالية من إمكانية التلوث بهدف الوصول إلى تلك الأهداف وهو ما يعرف بتكنيك زراعة الأنسجة ويستعمل مصطلح Tissue Culture للدلالة على زراعة أى جزء نباتى على بيئة صناعية فى المعمل وقد تكون الزراعة زراعة خلية أو مجموعة خلايا أو زراعة الأعضاء أو أجزاءها أو زراعة البروتوبلاست أوحبوب اللقاح .

زراعة الأنسجة وأهميتها في أمراض النبات :

جميع طرق زراعة الأنسجة ذات أهمية لأمراض النبات ، فمثلا بعض هذه الطرق مثل الطريقة الدقيقة لإكثار النبات Plant micro - propagation تحمل في ثناياها خطر إنتشار الكائنات الممرضة أو علي العكس فإن هذه الطريقة تستعمل لإنتاج نباتات خالية من الكائن الممرض كإنتاج شتلات خالية من المسببات المرضية أهمها الفيروس. فمن المعروف أن بعض النباتات التي تتكاثر خضريا مثل البطاطس والفراولة والموز والثوم وغيرها تصاب بالفيروسات العديدة التي تؤدى إلى ضعف النباتات ونقص الإنتاجية وردائة التقاوي والشتلات، وحيث أن هذه الإصابة تنتشر فى جميع أجزاء النباتات فإن هذه الأمراض يمكن أن تنتقل عن طريق التكاثر بالطرق التقليدية باستخدام الدرنات أو الريزومات أو المدادات الأمر الذى يؤدى إلى تدهور التقاوي عاماً بعدعام و يؤدى أيضا إلى ضرورة إستيراد العديد من النباتات من الخارج مما يكلف الدولة ملايين الجنيهات سنويا، و لكن بإستخدام أسلوب زراعة الأنسجة يمكن إنتاج نباتات خالية من هذه المسببات المرضية سواء كانت متسببة عن أمراض فطرية أو بكتيرية أو نيماتودية أو حتى فيروسية و بالتالى ينعكس ذلك على جودة و كفاءة التقاوي والشتلات الناتجة من زراعة الأنسجة. والأكثر أهمية فإن كثيرا من هذه الطرق يمكن أن تستعمل لدراسة مواقع وإمكانية عزل جينات المقاومة لبعض الكائنات الممرضة وطرق أخرى تستعمل لتطوير ونقل مثل هذه الجينات إلي النباتات القابلة للإصابة . إن أكثر طرق زراعة الأنسجة أهمية ودورها في أمراض النبات مشروحة بإختصار فيما يلي : -

أولا: مزرعة الكالوس ،مزرعة الخلايا المفردة ،مزرعة القمة المرستيمية ومزارع الإكثار الدقيق :

١- مزرعة الكالوس أو الخلية المفردة :

الكالوس هو كتلة غير متميزة تقسيميا وتنتج عند وضع نسيج حى على بيئة غذائية تحتوى على مواد غذائية مثل الأوكسينات ويعاد زراعة الكالوس من كل مزرعة سابقة على بيئة غذائية سائلة تحت الرج المستمر لإعطاء خلايا مفردة عديدة وعندما أُخذ أحد من الاثنين الكالوس أو الخلايا المفردة ووضعت فى بيئة غذائية مناسبة تتكشف الخلايا إلى اجنة ومنها إلى نموات كاملة يمكن أن توضع فى قصارى ثم تنقل للحقل .

٢- مزارع الخلايا المفردة :

تعتبر أول خطوة في عمل مزارع الخلايا هي عزل الخلايا المفردة وتتم عملية عزل الخلايا المفردة إما بالوسيلة الميكانيكية وإما أنزيمياً من الأعضاء النباتية وإما تؤخذ من نسيج كالوس نامي. يلي هذه الخطوة زراعة الخلايا المفردة علي البيئة المناسبة، وتعد طريقة برجمان من أكثر الطرق شيوعاً في زراعة الخلايا المفردة ويراعي في هذه الطريقة أن يكون تركيز الخلايا المفردة في البيئة السائلة ضعف التركيز النهائي المطلوب عند الزراعة وتتوقف طبيعة النمو في مزارع الخلايا علي تركيز الهرمونات في بيئة النمو حيث أنه قد يكون النمو متميز أي يتكون نموات خضرية أو جذرية أو كليهما أو قد يكون النمو غير متميز أي تتكون كتلة من الخلايا تسمي كالوسCallus. وينتج الكالوس من أي نسيج نباتي متميز . بوضع الجزء النباتي الذي تؤخذ منه الخلايا في بيئة تحتوي علي تركيز مرتفع من الأوكسين وتركيز منخفض من السيتوكينين حيث يتكون الكالوس عند ذلك ويمكن أن يستمر في النمو إما علي صورة كتل متعددة الخلايا في البيئات الصلبة أو علي أشكال تجمعات صغيرة من الخلايا في البيئات السائلة. ومع إستعمال تركيز مرتفع من السيتوكينين ومنخفض من الأوكسين فأنه يمكن أن تتكون الجذور والسيقان والأوراق. .

أهمية مزارع الخلايا أو الأنسجة في تربية النبات :

يمكن الإستفادة من مزارع الأنسجة أو الخلايا في تربية النبات كالتالي :

يمكن الحصول علي الإختلافات الوراثية التي يحتاج إليها المربي في برامج التربية من مزارع الأنسجة فمثلا :

- تعتبر مزارع الخلايا مصدراً هاماً للطفرات التي تعتبر أحد مصادر التصنيفات الوراثية وذلك لأن كل خلية لها القدرة علي أن تصبح فرد جديد وبالتالي إحتمالات الحصول علي طفرات يكون كبير . ولقد لوحظت هذه الطفرات في مزارع محاصيل الخس، الثوم، الأرز، وغيرها .
- يمكن عن طريق مزارع الأنسجة إنتخاب نباتات مقاومة للأمراض والظروف البيئية الغير مناسبة .
- كذلك أمكن إنتاج سلالات مقاومة للفيروس من نبات الدخان من مزارع الخلايا. .

٣- مزارع القمة الخضرية المرستيمية :

يستفاد منها في إنتاج نباتات خالية من الفيروس ويعد ذلك أمر بالغ الأهمية في المحاصيل خضرية التكاثر والتي ينتقل فيها الفيروس تلقائياً مع الأجزاء الخضرية المستخدمة في التكاثر. وبالرغم من أن النباتات قد تكون مصابة جهازياً بالفيروس إلا أن القمة المرستيمية تكون خالية غالباً أو تحتوى على عدد قليل جدا من الفيروسات وذلك للاسباب التالية :

- خلو القمة المرستيمية من الأنسجة الوعائية التي يكون إنتقال الفيروس فيها سريع.
- يكون النشاط الأيضي في القمة المرستيمية غالباً بدرجة يقل معها تكاثر الفيروس.
- نظم المقاومة لتكاثر الفيروس تكون أعلي في الأنسجة المرستيمية عن أي نسيج آخر.
- التركيز العالي للأوكسين في القمم النامية يثبط نشاط الفيروس.

ولهذه الأسباب فإن زراعة القمم المرستيمية تؤدي إلي إنتاج نباتات خالية من الفيروس. ويكون طول القمة المرستيمية ٢٥٠ ميكرون وعرضها ١٠٠ ميكرون ولصعوبة فصل هذه القمة فإنه تستعمل القمة النامية كلها ويطلق على هذه المزارع

المزارع أيضاً تحتوى على نباتات خالية من الفيروس فـي .Shoot Tip Culture أغلب الأحيان . والذي يحدد مستويات النجاح في هذه العملية هي الدقة في فصـل القمة النامية بدون الإضرار بها وكذلك في إختيار البيئة المناسبة للزراعة التي يجب أن تكون محفزة لتكوين الجذور والأوراق من القمم المزروعة. ويلاحظ أن :

البيئة الصلبة تشجع تكوين الكالوس وهو أمر غير مرغوب في هذه المـزارع ويجب ملاحظة أنه كلما زاد حجم القمة المرستيمية كلما زادت فرصة تمييز نباتات منها أما القمة المرستيمية الصغيرة فإنها تنتهي بتكوين بذور وكالوس فقط وقـد لا تتكون جذور..

وعلي ذلك فالقاعدة العامة هي أن تكون القمم المرستيمية صغيرة بحيث تكوّن نباتات خالية من الفيروس وكبيرة بحيث تسمح بإعطاء نباتات كاملة القمة الخضرية Apical . M . T . C (من ضمن فوائد زراعة القمة النامية، الإكثـار الخضـري السريع للنباتات الممتازة لإجراء التجارب عليها أو بيعها في الأسواق)..

٤-مزارع الإكثار الدقيق :

يستفاد من مزارع الإكثار الدقيق في إنتاج سلالات خضرية تحتـوي علـي عشرات الآلاف من النباتات الصغيرة خلال فترة وجيزة. ويفضل دائماً إسـتخدام القمة المرستيمية لأنها تكون خالية من الفيروس كما يجب إستخدام أجزاء صـغيرة من ساق النبات تحتوي كل منها علي عقد وبرعم جانبي وذلك لأن البراعم الجانبية المفصولة من الأشجار لا تنمو بمفردها لذلك فإن النسيج الأمـي الموجـود معـه يساعده علي النمو. كما أن البراعم الجانبية تتحمل التعقيم عن البراعم الطرفية.

ويحدث الإكثار الدقيق في المزارع بواحدة من ثلاث طرق :

١- من خلال الكالس :

Callus culture

الكالوس :- هو عبارة عن تجمع بروتوبلازمي من خلايا غيـر مميـزة أو غيـر مشكلة (أي توجد جذور وسيقان وأوراق)] غيرمنتظمة..

تعد هذه الطريقة من أسرع طرق الإكثار الدقيق إلا أن هذه الطريقة غير مفضـلة للأسباب التالية :-

أ- الكالوس غير ثابت وراثياً حيث تظهر به حالات مختلفة من التضاعف الكروموسومي .

ب- لم يتميز الكالوس إلي نموات نباتية في العديد من المحاصيل الهامة .

فوائد إستخدام زراعة الكالوس :-

أ - يعتبر الكالوس مصدر للإختلافات الوراثية الكروموسومية التي تزيد بزيادة عمر مزرعة الكالوس .

ب- الحصول علي نباتات خالية من الفيروس .

٢- من خلال تكوين البراعم العرضية :

يقصد بالبراعم العرضية تلك البراعم التي تتكون مباشرة من العضو النباتي دون أن يفصل بينها نسيج كالوس وتتكاثر أعداد كبيرة من المحاصيل الإقتصادية بهذه الطريقة .

٣- من خلال تحفيز التفرع الجانبي :

يتم تحفيز التفرع الجانبي في المزارع بتوفير السيتوكينين بها بتركيز معين إما مع الأكسين أو بدونه حيث يؤدي توافر السيتوكينين بالمزرعة إلي نمو البراعم الجانبية التي تكون في القمم المرستيمية التي تنمو من البراعم المزروعة ثم تنمو البراعم الجانبية التي تكون في القمم المرستيمية الجديدة وهكذا .

ويؤدي إستمرار هذه العملية لعدة مرات إلي تكوين كتلة من النموات الجديدة. ثم يلي ذلك نقل هذه النموات إلي بيئة أخرى تختلف في مكوناتها الهرمونية حتى تتم عملية التجذير ومع تكوين الجذور تنقل هذه النباتات إلي أصص معقمة بحرص تام ويجب رعايتها تماماً حتي يتم نقلها إلي البيوت المحمية .

ثانيا مزارع البروتوبلاست :

Protoplast culture

تعرف مزارع البروتوبلاست علي أنها زراعة الخلايا بدون جدرها الخلوية. تفيد مزارع البروتوبلاست فى عملية دمج البروتوبلاست Protoplast Fusion عند الرغبة فى إجراء تهجينات نوعية بعيدة وكذلك عملية إدخال أجزاء

غريبة من DNA أو بكتريا أو فيروسات معينة في الهندسة الوراثية حيث يتم عزل البروتوبلاست عن الجدر الخلوية ويزرع في بيئة مناسبة ويتم هذا بواسطة أنـزيم السليوليز الذي يحفز من مزارع الفطر .

تعد الأوراق الحديثة التكوين أفضل مصادر الخلايا لمـزارع البروتوبلاسـت حيث يظهر النسيج النباتى المستعمل سطحياً ثم تسلخ بشرة الورقة أو يقطع الجـزء النباتي إلي أجزاء صغيرة ويوضع في محلول الأنزيمات ويتكون من أنزيم البكتينيز pectinase الذى يفصل الصفيحة الوسطى وأنزيم السلوليز cellulase الـذى يحلـل السليلوز ويفضل أن تكون المعاملة بالأنزيمات الهاضمة تحـت تفريـغ لإسـراع عملية تخلل الأنزيمات بين الخلايا وتستمر المعاملة بالأنزيمات ١/٢ سـاعة إلـي ساعة . ثم تزرع علي البيئة الملائمة ويفضل أن تكـون سـائلة وتظهـر الجـدر السيليوزية حول البروتوبلاست بعد -٢-١٤ يوم .ونجحت هذه الطريقة في العائلـة الباذنجانية كالفلفل، الباذنجان والبطاطس..

أهمية مزارع البروتوبلازم :

١- يمكن الإستفادة منها في الإكثار وعزل السلالات الفطرية..

٢- دمج بروتوبلازم الأنواع النباتية البعيدة عن بعضها وهو يعـد وسـيلة فعالـة لإجراء التهجينات البعيدة .

٣- إدخال صفة العقم الذكري السيتوبلازمي في النباتات..

٤- الحصول علي نباتات وراثية يمكن الاستفادة منها في تحسين النباتات وخاصاً العقيمة منها .

٥- إدخال أجزاء من الـ DNA أو البكتريا أو الفيروسات عن طريـق الهندسـة الوراثية..

ويمكن تحقيق هذه الأهمية فبعد الحصول على البروتوبلاستس يكون جـاهزا للإستعمالات التى تحقق هذه الأهمية بالطرق التالية :

١- حقن البروتوبلاست بالفيروسات ودراسة تكاثر وفسيولوجية الفيروس :

يمكن حقن البروتوبلاستس لكثير من النباتات بواحد أو أكثر من الفيروسات التي تصيب النبات تتضمن عملية الحقن خلط البروتوبلاستس مع كمية قليلة من الفيروس النقي الذي أضيف إليه عامل مشجع علي الإندماج يسمى فيوزاجين (Fusagen) مثل poly L-ornithine أو مادة Polyethlene glycol ، يحضن خليط (الفيروس + فيوزاجين + بروتوبلاست) مع قليل من المنشط علي حرارة الغرفة العادية لمدة ١٠ – ٢٠ دقيقة بعدئذ يغسل البروتوبلاست بالمانيتول أو بمحلول مغذى أو بكليهما لإزالة الفيوزاجين والفيروس الزائد في زمن معين يختلف باختلاف علاقة الفيروس مع العائل إن تكاثر الفيروس في البروتوبلاستس عادة ما تكتمل خلال ٢٤ – ٣٦ ساعة من الحقن ، يمكن مراقبة سرعة تكاثر الفيروس بإستعمال جزء من البروتوبلاستس المحقون وفحصه بالميكروسكوب الإلكتروني أو بالإختبارات الحيوية علي عائل يظهر أعراض البقع الموضعية ، أو باستعمال الإختبارات السيرولوجية .

٢- حقن البروتوبلاست بنواقل مهندسة وراثيا : ٢

العوامل الناقلة التى أستعملت بنجاح لإدخال مواد وراثية غريبة فى خلايا النبات هى :

أ- **البلازميد** مثل بلازمد Ti ، فى البكتريا *Agrobacterium Tumefaciens* .

ب- **الفاج** ومنه الذى يصيب الخلية البكتيرية وكذلك حمض DNA الفيروسي ثنائي الخيط لفيروس موزايك القرنبيط ، هناك فيروسات أخرى ذات الخيط الواحد من DNA مثل فيروسات الجوزاء ، الفيروسات متعددة الأجزاء ، الفيرويدات والعناصر المتنقلة كلها أستعملت في هذا المجال .

ج- **الكوزميد** وهو يجمع فى خواصه بين البلازميد والفاج(انظر ناقلات الكلونة) .

إن المادة الوراثية (النواة ، البلازميد ، DNA أو RNA الفيروسي) يمكن أيضا إدخالها فى البروتوبلاست إما بواسطة تحضينها مع البروتوبلاست في وجود الفيوزاجين وهو عامل مشجع على الإندماج أو بواسطة تغليف المادة الوراثية بحويصلات من الدهون الصناعية تسمى Liposomes ليبوسومات ، فعند تحضينها مع البروتوبلاست تسحب إلى الداخل بواسطة البروتوبلاست وبالتالى تأخذ معها

المادة الوراثية التى تحتويها . وهذه الطريقة أكثر الطرق إستخداماً لإدخال جينات المقاومة .

٣- إختيار النباتات المشتقة من البروتوبلاست المقاومة للإصابة المرضية والمقاومة لتوكسينات الكائن الممرض :

في زراعات الأنسجة النباتية بطريقة إعادة تخليقها من الكالوس، خلايا مفردة أو من البروتوبلاست المأخوذ من نبات مفرد وجد أن تلك النباتات تظهر واحدا أو أكثر من تلك الصفات تختلف عن تلك التي تظهرها نباتات أخرى (أفراد من نفس المجموعة) أو نباتات الآباء ، هذه الظاهرة تسمى Somaclonal Variation يقصد بها الإختلافات الموجودة ببعض النباتات النامية من خلايا جسمية علي بيئات زراعة الأنسجة. إن كثيراً من مثل هذه النباتات تختلف عن الآباء وتختلف عن بعضها البعض فى درجة المقاومة التى تظهرها ضد كائن ممرض معين. فإذا تم الحصول علي بروتوبلاست هذه النباتات فإنه يمكن حقنها بالكائن الممرض مثل فيروسات أو يمكن وضعها في بيئة غذائية أُضيف إليها تركيزات مختلفة من توكسين الكائن الممرض أو من المضادات الحيوية أو مبيد فطرى أو مبيد فيروسى، ثم يختار البروتوبلاست والنباتات المشتقة من البروتوبلاست وتُقيم من حيث المقاومة لكائن ممرض معين عند أى معاملة من المعاملات السابقة ، ثم تدرس وتدمج في برامج التربية .

٤- حقن البروتوبلاست المصاب بالفيروس بمواد مضادة للفيروس :

المركبات المضادة للفيروسات يمكن إختبارها بسرعة إذا أضيفت المركبات المعنية إلي البيئة التى وضع فيها البروتوبلاست فوراً بعد حقنه بالفيروس ، إن هذه المادة المضادة للفيروس تستطيع أن تثبط أو تقلل بشكل كبير تكاثر الفيروس في البروتوبلاست المحقون (تحدد بواسطة الإختبارات الحيوية بدون أن تؤثر علي بقاء البروتوبلاست حياً ولا تؤثر علي إمكانية إعادة تخليقه) .

٥- نقل جين المقاومة إلي النباتات الغير متوافقة جنسيا من خلال دمج البروتوبلاست :

عند خلط البروتوبلاست المتحصل عليه المأخوذ من أنواع نباتية ليست بينهما قرابة فى وجود مادة الفيوزاجين (مادة تساعد على الإندماج) فإن كثيرا من هذه

البروتوبلاستات تندمج مع بروتوبلاستات أخرى من نفس النوع أو أنواع أخرى ، هذا ما يسمى التهجين الجسمىSomatic hybridization فإن هذه الهجن تظهر إختلافاً واسعاً نتيجة لاتحادات الأنوية و DNA السيتوبلازمى (خصوصا DNA الميتوكوندريا) .

الإندماج للبروتوبلاست ضمن نفس الجنس أو بين أجناس متقاربة يؤدى إلى تكوين هجن تكون أكثر قابلية للحياة بعكس إذا حدث الإندماج بين أنواع بعيدة القرابة فإن الهجن الناتجة لا تنمو أوتكون عقيمة. وتكون هذه الهجن ذات أهمية كبرى فى أمراض النبات إذا احتوت هذه الهجن على المجموعة الكروموسومية لأحد الآباء بالإضافة إلى أجزاء من المجموعة الكروموسومية التى قد تحتوى على جينات المقاومة من الأب الآخر ضد أحد الكائنات الممرضة ويمكن الحصول على هذه الهجن من البروتوبلاست أحادى المجموعة الكروموسومية سواء من أنواع متوافقة أو غيرمتوافقة جنسيا .

ثالثا : مزارع المتوك وأهميتها في إنتاج نباتات أحادية :

تفيد مزارع المتوك في إنتاج نباتات أحادية Haploid من حبوب اللقاح إما من خلال تكوين أجنة أو من خلال تكوين الكالوس..

ما يراعى عند عمل مزارع المتوك :

١- يجب أن تؤخذ المتوك من نباتات حديثة الإزهار ويكون ذلك في مرحلة معينة من تكوين حبوب اللقاح قبل تفتح الزهرة. لذلك يفضل زراعة النباتات التي تؤخذ منها المتوك في ظروف متحكم فيها بيئياً ليمكن الربط بين المظهر الخارجي للبرعم الزهري والمرحلة المناسبة لتكوين حبوب اللقاح .

٢- يجب تطهير البراعم الزهرية المنتخبة بأحد المطهرات المناسبة ثم تفصل الأسدية كاملة (متك + خيط) وتوضع في طبق بتري معقم .

٣- يجب أن تسحق أحد المتوك في صبغة أسيتوكارمن لإختبار مرحلة تكوينه فإذا كانت المرحلة مناسبة تفصل بقية المتوك عن الخيوط وتوضع أفقياً في بيئات زراعية .

٤- يجب الحذر والحرص عند فصل وزراعة المتوك حتى لا تحدث أضراراً لهـا حيث أن تجريحها يؤدي إلي تحفيز تكوين كالوس من خلال جدر المتوك وهي خلايا ثنائية .

٥- تحضين مزارع المتوك من الضوء لمدة ١٢-18 – ساعة وعلي درجة حرارة ٢٨° م بالتبادل مع فترة ظلام مدتها ٦ – ١٢ ساعة علي درجة حـرارة ٢٢° م ، بعد ٣ – ٨ أسابيع يبدأ تفتح المتوك وتحولها إلي اللون البني وذلك بسبب ضغط الكالوس المتكون من حبوب اللقاح علي المتـوك أو بسـبب النباتـات الصغيرة التي تنمو فيها .

٦- تفصل النباتات المفردة أو النموات الخضرية المتكونة من الكـالوس بعـد أن يصل ٣ : ٥ سم وتنقل إلي بيئة مناسبة لتكوين الجذور ثم بعـد ذلـك تنقـل النباتات التي تكونت جذورها إلي أصص صغيرة معقمة .

أهمية مزارع المتوك وحبوب اللقاح :

ترجع أهمية هذه المزارع إلي الحصول علـي نباتـات أحاديـة المجموعـة الكروموسومية إما من خلال تكوين الأجنة أو تكوين الكالوس ويفيد ذلك في الآتي:

أ – تستخدم النباتات الأحادية في الحصول علي نباتات ثنائيـة أصـيلة متماثلـة العوامل الوراثية لجميع الجينات في جيل واحد بدلا من إستعمال طرق التربية العادية من المحاصيل الخلطية التلقيح وذلك بمعاملتها بالكولوشيسـين . وهـذا يوفر من ٦: ٨ أجيال للتربية الذاتية .

ب –تفيد النباتات الأحادية في الحصول علي مختلف حالات التعدد الكروموسومي الغير تام..

ونظرا لأن الجراثيم الدقيقة (حبوب اللقاح) هى نـواتج الإنقسـام الميـوزي (الإختزالي) فإن المادة الوراثية المكونة لكل جرثومة دقيقة تكون متباينه وكـذلك يتباين الكالوس والنباتات الأحادية المجموعة الصبغية تكون مختلفة عـن المـادة الوراثية المكونة لجراثيم دقيقة أخرى أيضا نظرا لتباين ناتج الإنقسام الميوزى لأن خلايا الأنسجة والنباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية تحتوى مجموعة جينات واحدة (1 N) فإن كل جين يستطيع أن يظهر مفعوله ويعبر عن نفسه وبالتالى يمكن

أن يكون ممكنا الكشف وتعيين أماكن وعزل حتى الجينات ذات الأهمية القليلة فى المقاومة لكائن ممرض معين .

(نباتات متماثلة العوامل الوراثية لجميع الجينات فى جيل واحد بدلا من إستعمال طرق التربية العادية التى تستغرق عدة أجيال) .

التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية فى مصر :

يعد إستخدام التكنولوجيا الحيوية وتطبيقاتها المختلفة ثورة علمية وحضارية بدأتها الدول المتقدمة وأحرزت إنتصارات علمية كبيرة وإنجازات مشهودة، مما دعى دول أخرى إلى أن تحذو حذو تلك الدول المتقدمة وذلك للإستفادة من التكنولوجيا الحيوية فى تنمية مجتمعاتهم والنهوض بها .

وتعتبر الهندسة الوراثية وتطبيقات التكنولوجيا الحيوية علامة مميزة على مدى تقدم الشعوب نظرا لما تتطلبه من إمكانيات علمية عالية وأبحاث متطورة وتجارب معملية وحقلية تأخذ سنوات عديدة وتخضع لتقييم دقيق من عدة جهات مختصة، كما تخضع لقواعد وإرشادات وقوانين صارمة حرصا على سلامة الإنسان والحيوان والبيئة .

لذلك حرصت مصر على أن يكون لها السبق فى مجال إستخدام التكنولوجيا الحيوية كدولة عربية ونامية، وهى أحوج ماتكون لتلك التكنولوجيا نظراً للزيادة السكانية المطردة وتناقص الرقعة الزراعية ومشاكل ملوحة التربة ونقص المياه والجفاف والتصحر وغيرها .

ويوجد فى مصر معاهد وشركات متخصصة تستخدم التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية منذ عدة سنوات وتنتج اللقاحات الواقية من الأمراض كما تنتج الأدوية مثل الأنسولين .

أما عن إستخدام الهندسة الوراثية فى مجال الزراعة، فهناك جامعات ومعاهد فى مصر تعمل بدأب وإجتهاد، وإنجازاتها متعددة وقيمة و تجاربها المعملية والحقلية التى أستمرت عدة سنوات فى مجال البحث والتطبيق والتقييم مؤهلة إلى الدخول فى مجال التسويق بمنتجات عالية الجودة ومنافسة للمنتجات العالمية .

ويعتبر معهد بحوث الهندسة الوراثية الزراعية بمركز البحوث الزراعية قلعة علمية ومنارة فكرية نظراً لإنجازاته الهامة فى مجال الهندسة الوراثية، وفيما يلى موجز عن إنجازات المعهد .

١- إنتاج مبيد حيوى لمكافحة الافات :

- قام المعهد بإ نتاج مبيد حيوى أطلق عليه " أجيرين Agerin" من سلالة مصرية من بكتيريا *Bacillus thuringiensis* "Bt" وقد تم تسجيل براءة إختراع هذا المركب فى كل من مصر والولايات المتحدة الأمريكية. ويتم إنتاج هذا المبيد الحيوى بالتعاون مع شركة " بيوجرو إنترناشيونال" وهى الشريك المسئول عن إنتاج المركب تجاريا، ويتم تسويقه من خلال "وحدة خدمات الهندسة الوراثية" وهذا المبيد الحيوى تم تسجيله فى وزارة الزراعة. وقد تم إستخدام هذا المبيد فى مقاومة آفات القطن فى مساحة بلغت حوالى" ١٦٠ ألف فدان خلال موسم ٢٠٠٢، كما أمكن إنتاج مركبات أخرى من " الأجيرين" لمقاومة آفات الخضر والفاكهة المختلفة .
- تم عزل خمسة عزلات مصرية من فطريات التريكودرما وتعريفها عن طرق المعهد الدولى للفطريات بالمملكة المتحدة، وهذه العزلات لها قدرة عالية فى القضاء على النيماتودا .
- تم تعريف عزلتين من بكتيريا "باسيلس" و "سيدومونس" أظهرت النتائج أن لها تأثير فعال فى منع فقس بيض النيماتودا، وسوف يتم إستخدام بعض هذه السلالات فى إنتاج مبيدات حيوية لمقاومة النيماتودا .

٢- إنتاج نباتات مقاومة للآفات :

تم التقييم الحقلى فى مصر لسلالات من البطاطس المعدلة وراثيا " محتوية على جين Bt " وذلك فى الحقل الملحق بالمعهد وفى محطة المركز الدولى للبطاطس بكفر الزيات، وقد أظهرت النتائج أن النباتات المعدلة وراثيا من صنف سبونتا (صنف يتم زراعته محليا) قد أظهرت مقاومة عالية للإصابة بفراشة درنات البطاطس، وجارى إستيفاء الإختبارات المطلوب تقديمها إلى لجنة الأمان الحيوى على هذا المنتج لتسجيله كصنف تجارى .

- إنتاج سلالات من الذرة الشامية المصرية مقاومة للثاقبات عن طريق نقل " جين Bt " باستخدام تقنيات التعديل الوراثى .
- يشارك المعهد مع معهد بحوث القطن بمركز البحوث الزراعية وبالتعاون مع شركة مونسانتو فى تنفيذ برنامج إستنباط سلالات من القطن المصرى معدلة وراثيا لمقاومة الحشرات، وسوف يطلق على هذه الأصناف الجديدة " جيزة – بولجارد I I " .

٣- إنتاج نباتات مقاومة للفيروسات :

أ- إنتاج قرعيات مقاومة للفيروسات :

تم إنتاج كوسة "صنف إسكندرانى" معدلة وراثيا لمقاومة فيروس التبرقش الزوكينى الأصفر (ZYMV) ، كما تم التوصل إلى أفضل الطرق لإجراء التعديل الوراثى لكل من الشمام والخيار والبطيخ، ويتم حاليا تقييم تلك النباتات المعدلة وراثيا لمقاومة فيروس (ZYMV) .

ب- إنتاج طماطم مقاومة للفيروسات :

يجرى العمل على إنتاج نباتات طماطم مقاومة للفيروسات خاصة " فيروسات الجيمينى " Gemini viruses ، والتى تنتقل عن طريق الذبابة البيضاء، وقد تم نقل جين يسبب موت الخلايا النباتية التى يحدث بها العدوى فقط ويمنع أو يحد من إنتشار الفيروس إلى باقى خلايا النبات. وقد أظهرت نباتات الطماطم المعدلة وراثيا بهذه الطريقة مقاومة للفيروس تحت ظروف العدوى الصناعية داخل الصوب .

جـ- إنتاج نباتات موز مقاومة للفيروسات :

تم عزل وتنقية فيروس " تورد القمة BBTV " فى الموز، وكذلك فيروس" تبرقش الموزCMV "، كما تم عزل وكلونة جين الغلاف البروتينى لهذه الفيروسات وتم إستخدام هذه الجينات فى عملية التعديل الوراثى لنبات الموز ليقاوم تلك الفيروسات .

د- تحديد البصمة الوراثية ورسم الخرائط الوراثية :

مع ظهور تقنيات البيولوجيا الجزيئية أمكن الكشف عن التباين الوراثى بين أفراد الكائنات الحية باستخدام الحمض النووى .

ويستخدم المعهد هذة التقنيات الحديثة لخدمة الزراعة فى عديد من المجالات منها :

- تقدير درجة نقاوة الأصناف النباتية .
- رسم الخرائط الوراثية للنباتات الاقتصادية الهامة .
- الإسراع ببرامج تربية المحاصيل .
- تحديد البصمة الوراثية للسلالة أو الصنف أو الهجين .

ومن أهم المحاصيل التى تم دراسة التباين الوراثى بين أصنافها ورسم الخريطة الوراثية لها هى :

الطماطم - الذرة - نخيل البلح - الكانولا - القطن .

طرق الهندسة الوراثية وأهميتها في أمراض النبات :

تهتم تقنيات الهندسة الوراثية بفصل الجينات من خلايا الكائنات الراقية ونقلها إلى خلايا الكائنات الدقيقة Microorganisms بغرض إنتاج منتجاتها البروتينية بصورة إقتصادية وكذلك نقل الجينات إلى النباتات والحيوانات لتحسين صفاتها الإقتصادية علاوة على إستخدام الطرق الحديثة لهذا العلم في تشخيص الأمراض الوراثية للإنسان ومحاولة علاجها .

فى السنوات العشر الماضية حدث تطور هائل في تطبيقات الهندسة الوراثية والتي أمكن بواسطتها إنتاج الإنسولين البشرى ، هرمونات النمو واللقاحات المضادة للفيروسات Vaccines بواسطة بكتريا الأمعاء *Escherichia coli* وخلايا الخميرة .

هذا التطور الغير متوقع أدى إلى نشأة فرع علمي جديد يسمى بالوراثة الجزئية Molecular genetics أو الهندسة الو راثية والذي أدت إستخدماته إلى تأسيس قطاع جديد من التكنولوجيا الصناعية يطلق عليه تكنولوجيا الجينات Gene

technology والذى سوف يتشابه حجمه الصناعى فى بداية القرن القادم مع الصناعات الإلكترونية الدقيقة Microelectronic والتكنولوجيا الذرية .

من المحتمل أن معظم إن لم يكن جميع الطرق العملية المستعملة فى الجزيئ الحيوى (المادة الوراثية) في النبات بشكل خاص تستعمل في الهندسة الو راثية في النباتات أو الكائنات الممرضة للنباتات وعلاقتها في تكشف ومقاومة المرض. وبعض أكثر الطرق أهمية فى الهندسة الوراثية وثيقة الصلة بأمراض النبات .

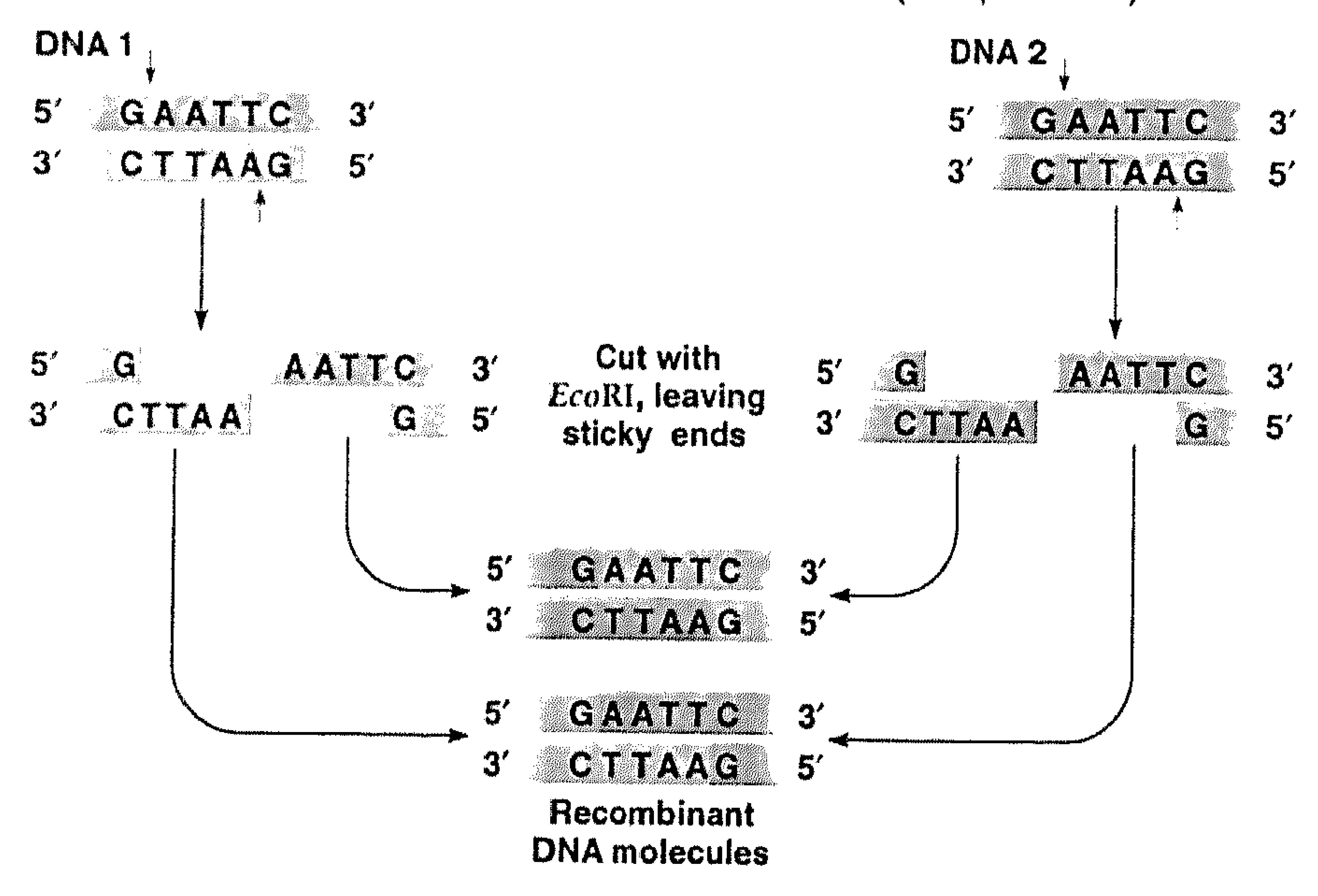
المادة الوراثية فى النبات والكائنات الممرضة النباتية : ذكرت سابقاً فى الباب الأول..

الكائنات الممرضة النباتية إما أن تكون مميزة النواة مثل (الفطريات ، النيماتودا ، النباتات الراقية المتطفلة والبروتوزا الهدبية) أو تكون غير مميزة النواة مثل (البكتريا ، والكائنات الدقيقة الشبية بالميكوبلازما) أو فيروسات شاملة الفيرويد. ففى الكائنات الممرضة مثل الفطريات والنباتات الراقية المتطفلة فإن النظم الوراثية مشابهة للنظام الوراثى فى النبات ومشابهة مع تلك الموجودة في النيماتودا. إن النظم الوراثية في البكتريا الممرضة النباتية والميكوبلازما مشابهة لما هو موجود في كل البكتريا . أما النظم الوراثية في الفيروسات الممرضة للنبات، تختلف عن كل من مممبزة النواة وغير مميزة النواة ولكن تعتمد التفاعل بين الـ DNA الفيروسى أوالـ RNA مع الوحدات الوراثية في عوائلها، إن معرفة النظم الوراثية فى بعض الكائنات الممرضة مثل البكتريا الممرضة *Agrobacterium tumefaciens* وفيروس موزايك القرنبيط يمكن إستعمالها كعوامل ناقلة لمادة وراثية غريبة إلى المجموعات الوراثية وبالتالي لإحداث تحويرا وراثياً في النباتات .

تطور تقنيات الهندسة الوراثية :

توالت إعتقادات العلماء أن الحامض النووى DNA هو الحامل للمادة الوراثية حتى أثبت ذلك Avery ١٩٤٤ بواسطة تجارب التحول Transformation على بكتيريا *Streptococcus pneumoniae* بأن الـ DNA وليس البروتينات هو الذى يحمل العوامل الوراثية فى خلايا الكائنات الحية، وقد عزز هذا الإعتقاد ظاهرة الإستقطاع Transduction فى الفيروسات Bacteriophages فى عام ١٩٥٢ وقد صمم Watson and Crick سنة ١٩٥٣

نموذجاً للتركيب الفراغي والكيماوى لجزىء الـــ DNA وأيضا إكتشـــف العـــالم Arber فى ١٩٦٢ بالصدفة أن الإنزيمات المحـــددة Restriction endonucleases تقطع سلاسل الـــ DNA فى أماكن محددة أو بمعنى أوضح فإن كل إنزيم يتعرف على تتابع محدد من ٤ أو ٦ نيوكليوتيدات حيث يقطع الـــ DNA عند هذا التتابع فنجد أن إنزيم EcoRI وهو أحد هذه الإنزيمات المحددة يقوم بقطع سلاسل جزىء الـــ DNA فقط عند المواقع التى تحتوى على تتابع مـــن ٦ نيوكليوتيـــدات هـــى GAATTC (شكل رقم ٦٣) :



شكل رقم ٦٣ طبيعة عمل إنزيمات القطع

كما تمكن Gellert من فصل إنزيمات تســـمى الإنزيمـــات اللاحمـــة DNA ligases والتى تلحم قطع الـــ DNA مع بعضها وفى هذه الفترة الزمنية تطورت طرق فصل الـــ DNA من الكائنات المختلفة وقد أمكـــن فصـــل جـــزىء DNA البلازميدى من بعض الأنواع البكتيرية ومنها *E. coli* ، البلازميـــد مكـــون مـــن سلسلة صغيرة مزدوجة حلقية مـــن DNA حيـــث يتواجـــد بجانـــب الـــ DNA الكروموسومى داخل البكتريا ويتضاعف Duplication مستقلا عـــن الـــ DNA الكروموسومى ، ويتراوح عدد البلازميدات داخل الخلية البكتيرية الواحدة بين ١- ٢٠ بلازميد وقد أمكن تصميم بعض البلازميدات وإســـتخدامها كناقـــل للجينـــات Vectors بين الكائنات الحية .

فى الفترة من عام ١٩٧١ – ١٩٧٣ تمكن Chang and Cohen من تطوير طريقة لمضاعفة قطعة DNA من بكتريا *Staphylococcus* داخل خلايا *E. coli* وتتلخص خطوات هذه الطريقة فيما يلى :

١. قطع DNA البلازميدى بواسطة أحد الإنزيمات القاطعة .

٢. قطع الـ DNA الكروموسومى لبكتريا *Staphylococcus* بواسطة نفس الإنزيم القاطع وفصل قطعة الـ *DNA* المراد نقلها ومضاعفتها داخل *E. coli*

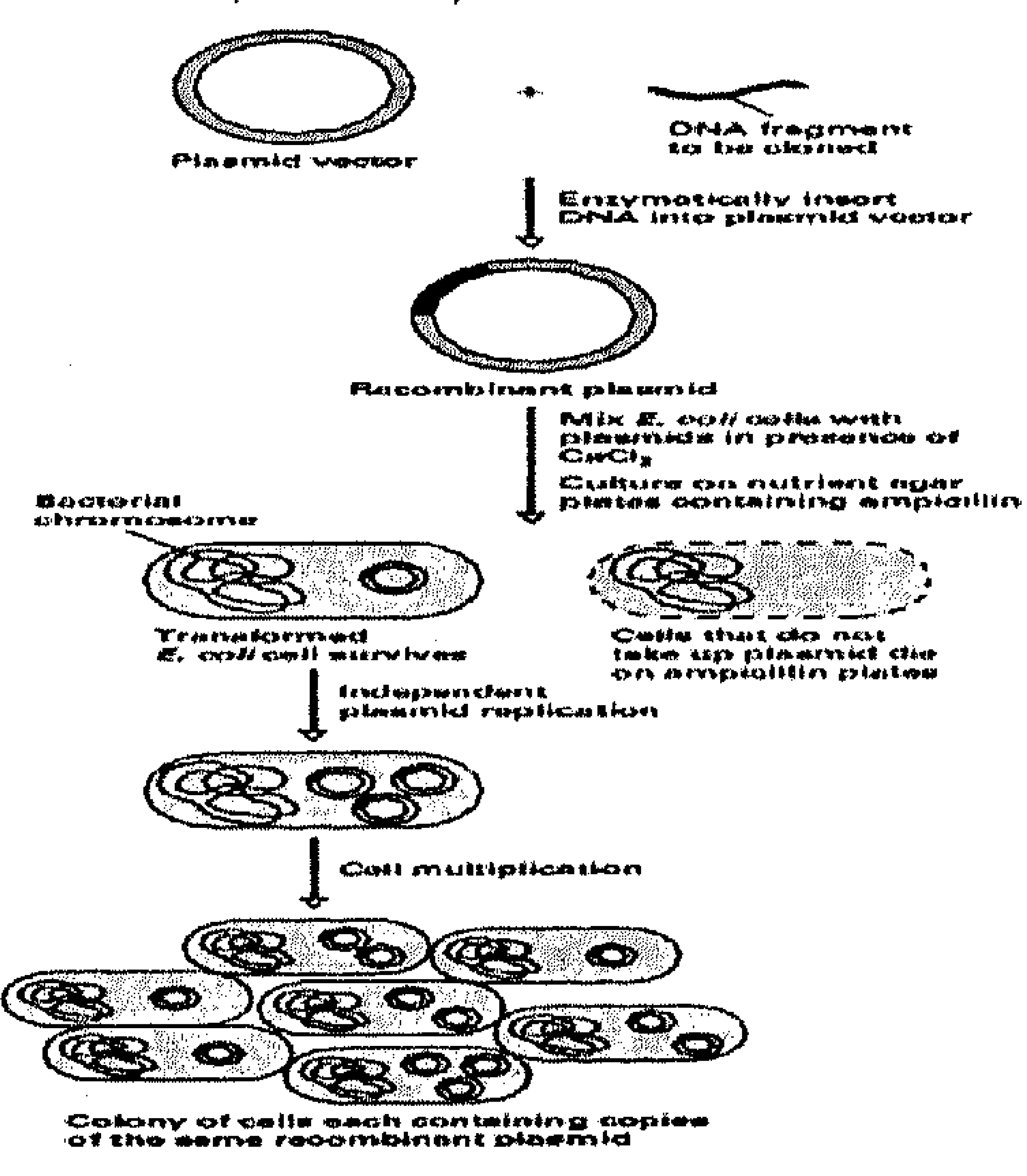
٣. لحم أو ربط قطعة الـ *DNA* المفصولة من *Staphylococcus* مع البلازميد بواسطة الإنزيم اللاحم DNA ligase وبالتالى يتكون بلازميد هجين Recombinant plasmid .

٤. يتم إدخال هذا البلازميد الهجين داخل بكتريا *E. coli* بواسطة طريقة التحول Transformation .

٥. تترك الخلايا البكتيرية المتحولة والمحتواة على البلازميد الهجين تتكاثر داخل بيئة غذائية .

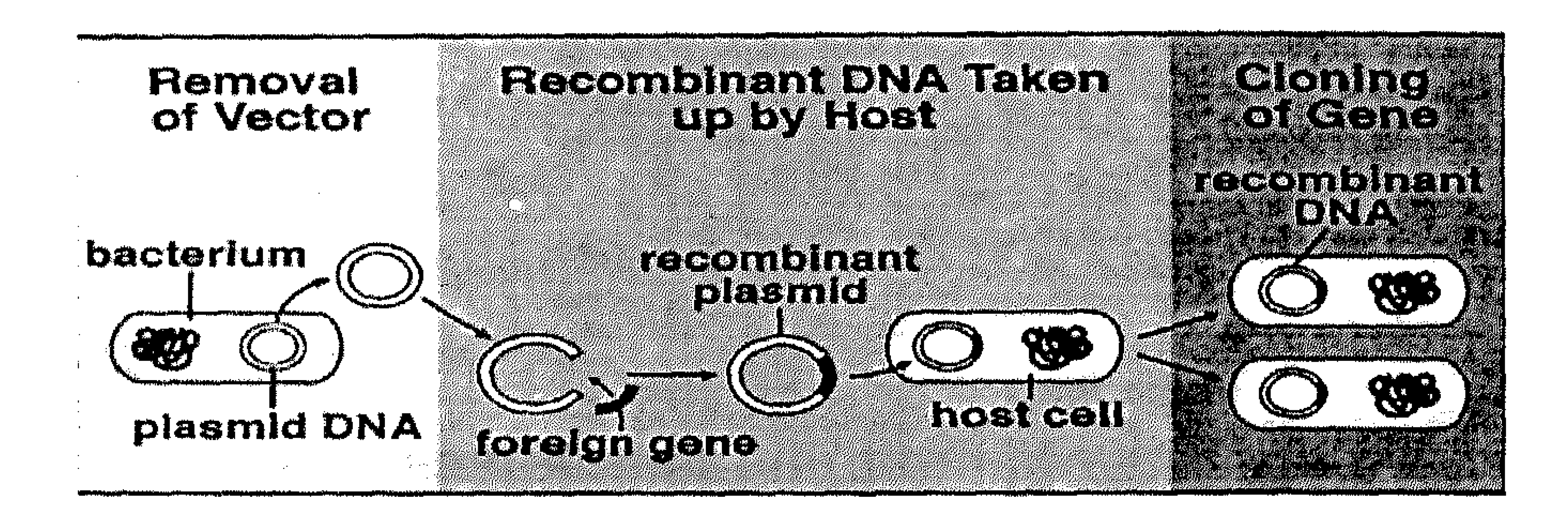
٦. فصل البلازميد الهجين من هذه الخلايا الناتجة .

بهذه الطريقة والمسماة DNA cloning يمكن مضاعفة قطعة DNA من كائن حى عدة ملايين من المرات داخل البكتريا (شكل رقم ٦٤، ٦٥) .



شكل رقم ٦٤ : شكل يوضح تكاثر الجين Gene Cloning

Genomic Library (1)



شكل رقم ٦٤ : شكل يوضح طريقة عمل مكتبة جينية

ناقلات الكلونة :

النواقل التى تستخدم لعملية الكلونة Cloning (لإنتاج أعداد كبيرة من جزيئات الـ DNA المتماثلة أو إنتاج نسخ عديدة من جين ما) هي كائنات حية والتي تستطيع نقل المادة الوراثية من كائن حى يسمى المعطى إلي كائن حى آخر يسمى المستقبل وسوف تستمر المادة الوراثية الحية وتستطيع إظهار تأثيرها الوراثى فى الخلية المستقبلة ، فمثلا البلازميدز ، الفيروسات (مثل البكتيريوفاج للبكتيريا) تستعمل كناقلات للمادة الوراثية في البكتيريا ، الخمائر و بلازميدز البكتيريا الممرضة النباتية *Agrobacterium tumefaciens* وفيروس موازيك القرنبيط الذي يصيب النباتات وفيروس الجوزاء بالإضافة إلى فيروس موزايك الدخان تستعمل كعوامل ناقلة للمادة الوراثية في النباتات وبعض النظم الفيروسية الأخرى ، هذه العومل الناقلة قد حدث لها تطورا كناقلات لجينات النباتات المقاومة من نبات إلي آخر وأحيانا بين نباتات ليست بينها قرابة .

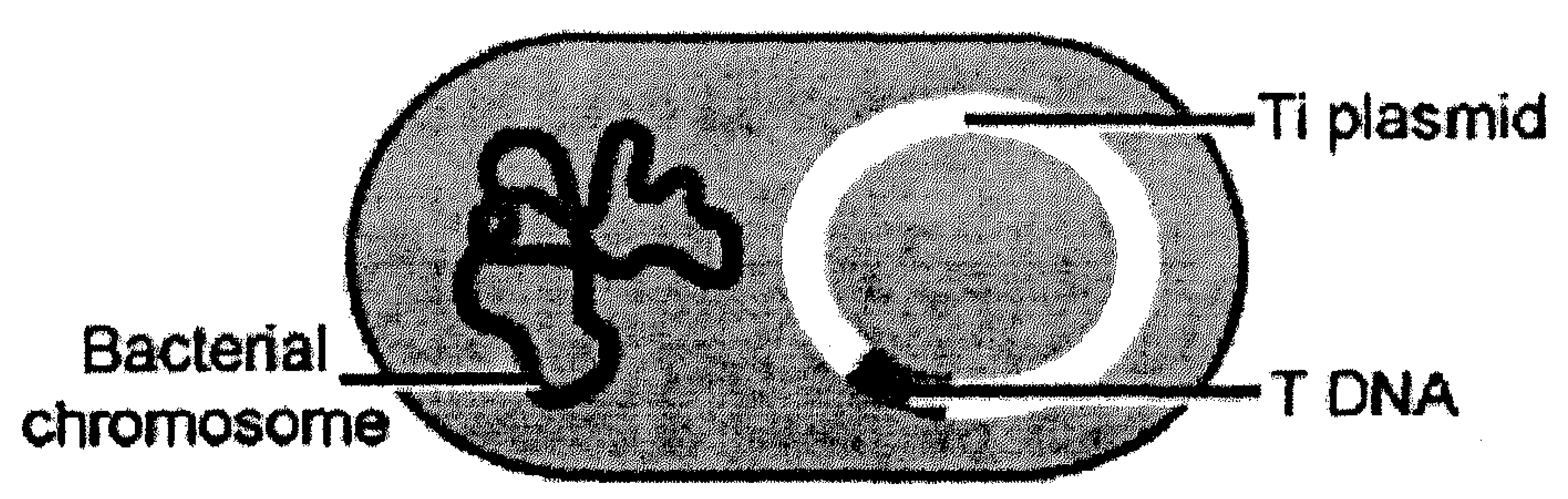
أنواع ناقلات الكلونة :

١- البلازميدات :

Plasmides

تكون البلازميدات عادة مكونه من جزئ صغير حلقى مزدوج من الـ DNA تكون وظيفته الطبيعية هى إكساب الخلية المضيفة صفة المقاومة ضد بعض

الأمراض، وللبلازميد عدة خواص تجعلها مفيدة جدا كناقلات الكلونة إذ أنها توجد كنسخة وحيدة أو عدة نسخ فى البكتريا، وتتناسخ مستقلة عن الـ DNA البكتيرى كما أن تتابع القواعد فى جزئ الـ DNA البلازميدى معروف بالكامل مما يتيح معرفة المكان المضبوط لنشاط القطع للأنزيم والذى يتم فيه إدخال الـ DNA المراد إضافته يكون البلازميد أصغر بكثير من كروموسوم الخلية المضيفة مما يسهل عزله. ومن أشهر البلازميدات المستخدمة فى مجال الهندسه الوراثيه بلازميد لبكتريا *Agrobacterium Tumefaciens* أو ما هو متحور عنها والذي يسمى بلازميد – Ti (شكل رقم ٦٦) .

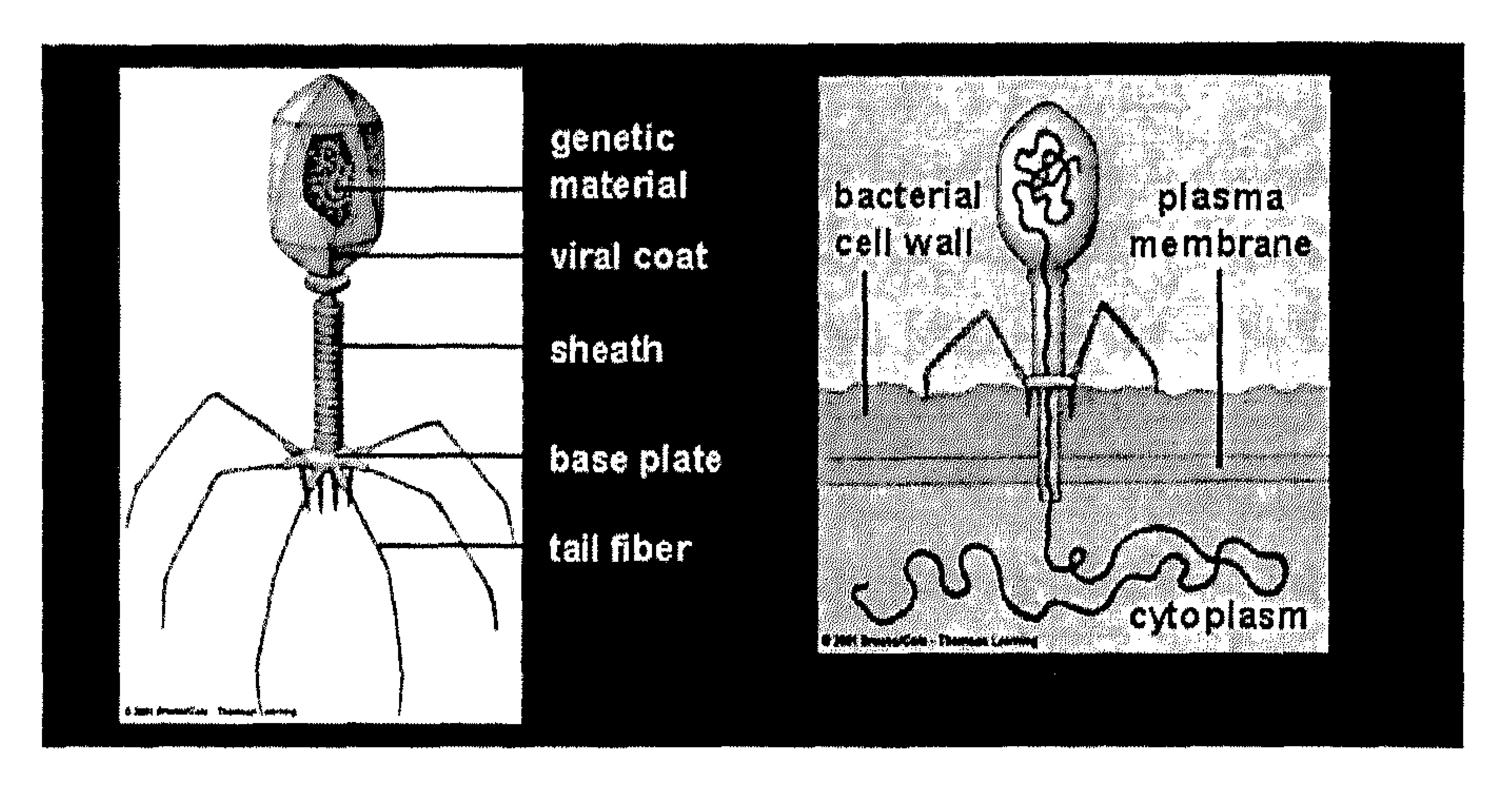


شكل رقم ٦٦ : يوضح الـ Ti - plasmid للأجروبكتيريم

٢- الفاج :

Phage

يتكون DNA الفاج من جزئ خطى من الـ DNA الذى يمكن فيه إدخال القطع المرغوبة من الـ DNA الجديد فى عدة مواقع للقطع الأنزيمىالمحدد، يجمع الـ DNA الهجينى بعد أن يستكمل الفاج دورة التحلل للبكتريا Lytic cycle وينتج وحدات فاج ناضجة معدية ويتميز هذا الناقل بإستيعاب شظايا الـDNA الأجنبى بطول من ١٠-٢٠ كيلو قاعدة فى حين يستوعب البلازميد شظايا بطول ٦-١٠ كيلو قاعدة، ومن أمثلة الفيروسات فيروس موزايك القرنبيط ويوضح الرسم التركيب العام للفيروس (شكل رقم ٦٧) .

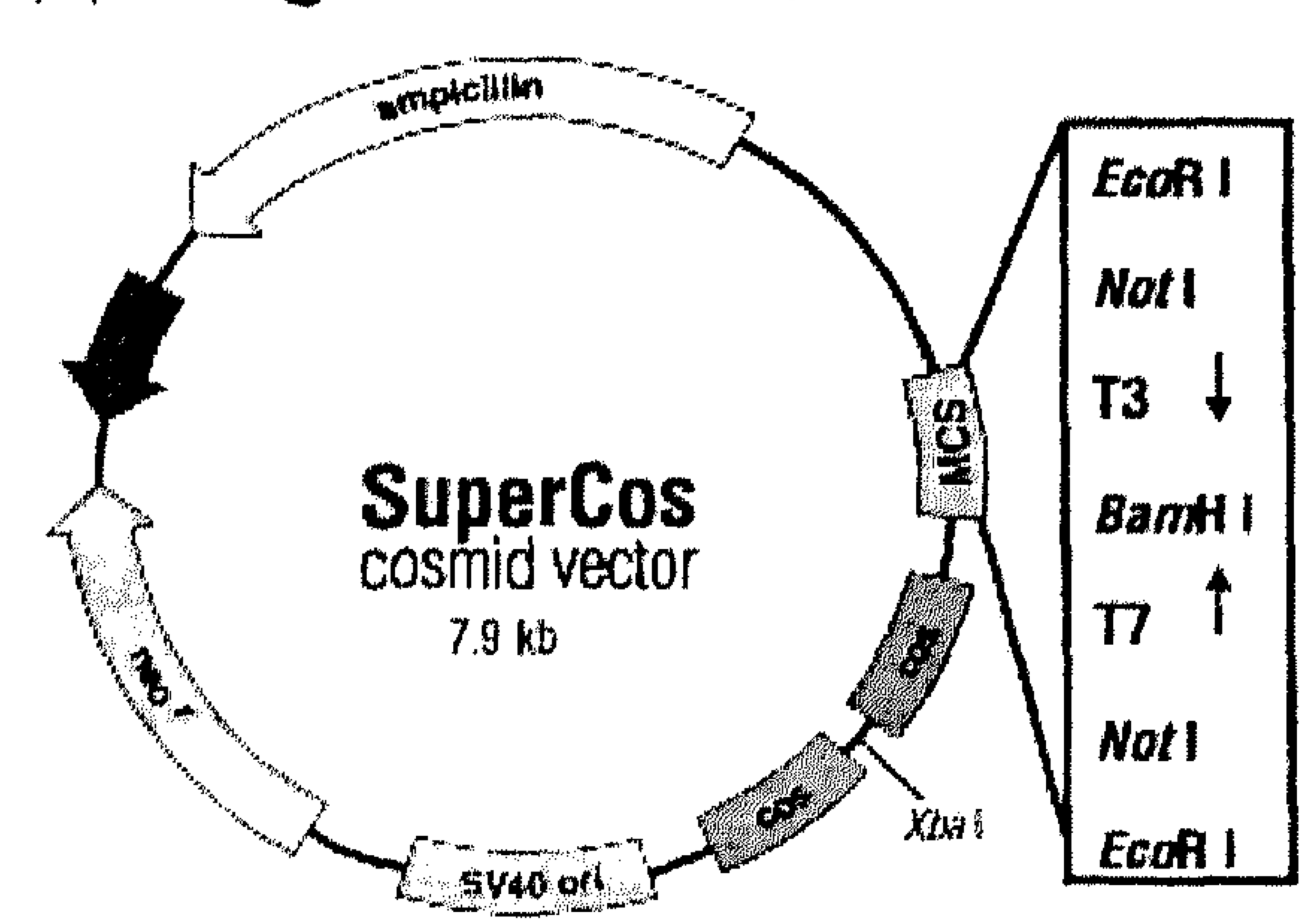


شكل رقم ٦٧ : يوضح التركيب العام للفيروس

١- الكوزميد :

Cosmid

وهى ناقلات تستقبل شظايا بطول ٢٥-٥٠ كيلو قاعدة وهـــى تجمـــع بـــين مميزات البلازميد والفاج وهو عياره عن بلازميد يحتوى على تتابع الموقع المسمى Cos (Cos sites)المطلوبة لتعبئة الـــ DNA لامبدا فى حبيبة الفاج، وتنمـــو هـــذه الناقلات فى صورة بلازميد فى البكتريا وحيث أن DNA اللامبدا قد يتم إســتبعاده فإنه يمكن إدخال قطع أكبر من الـــ DNA الكيميرى فى رأس الحبيبة الفيروســـية، ومن أمثلتها super Cos cosmid vector كما هو موضح بالرسم (شكل رقم ٦٨) .



شكل رقم ٦٨ : يوضح تركيب الـــ **super Cos cosmid vector**

الفيروسات النباتية كعوامل ناقلة :

الفيروسات من أكثر العوامل الناقلة فعالية في نقل المادة الوراثية في البكتيريا وفي الحيوانات، ويعتبر Ti بلازميد من أفضل العوامل الناقلة (إن لم يكن هو الناقل الوحيد) لجينات النبات . وتختلف العوامل الفيروسية النباتية الناقلة عن Ti بلازميد فى أنها ليست عوامل ناقلة من النوع المدمج بل من المحتمل أن تنقل جين إلي خلية النبات حيث تتضاعف إلي ملايين الأضعاف مع الفيروس ويمكن أيضا أن ينتشر الجين جهازيا خلال النبات. أن الفيروسات النباتية التى سوف تستعمل كعوامل ناقلة للجينات سوف تكون مختارة جيدا أو مهندسة بحيث أنها سوف تكون قادرة علي إصابة خلايا النبات وتضاعف نفسها هي والجين الغريب أو الجينات الغريبة التي تحملها دون أن تسبب أعراضا مرضية وخسارة في إنتاج النبات ، كل هذه الأهداف قد تحقق قدر منها وبإستمرار الأبحاث على مدى الزمن سوف تتحقق الأهداف المرجوه بإذن الله إن شاء الله .

مجموعة فيروس تبرقش القرنبيط :

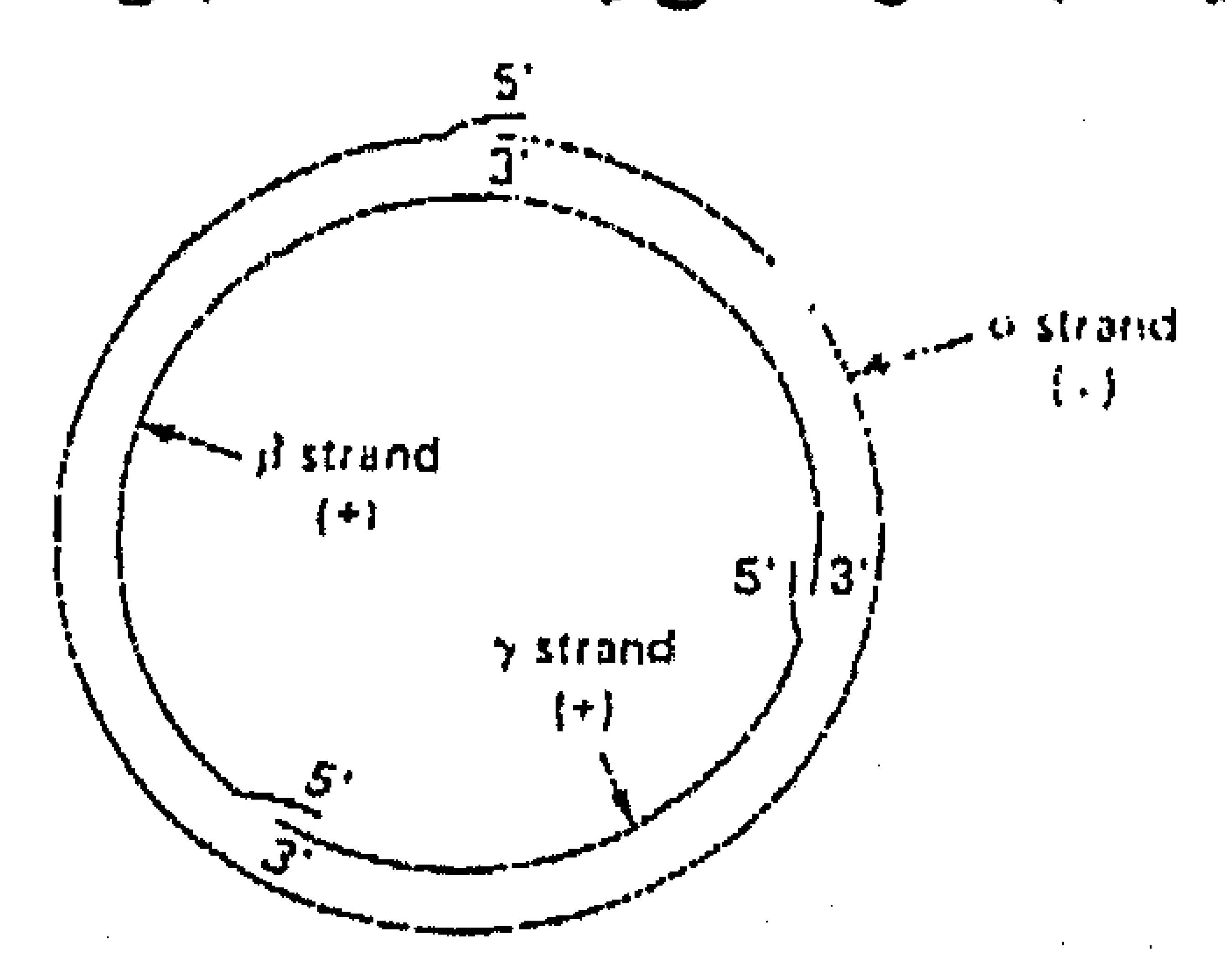
Caulimovirus group

تضم هذه المجموعة ثلاثة فيروسات وهي: Carnationetched ring virus وDahlia mosaic virus والثالث هو فيروس موزاييك القرنبيط الممثل للمجموعة حيث يكون الحامض النووي في هذه الفيروسات من نوع الـ DNA وتكون جسيماتها متساوية الأبعاد، ويبلغ قطرها حوالي ٥٠ نانومتر، تنتقل ميكانيكياً وبواسطة عدة أنواع من حشرات المن، لا تبقى هذه الفيروسات في الحشرات الناقلة أكثر من بضعة ساعات، لها مدى عوائلي ضيق، تسبب أمراض الموزاييك والتبرقش في النباتات التي تصيبها .

إن فيروسات موزايك القرنبيط هي فيروسات تحتوى علي حمض نووي الـ DNA ثنائي الخيط دائري يتكون من ٨٠٠٠ زوج من القواعد. كل خيط من خيوط DNA له إنقطاع أو إنقطاعين يتكون هذا الإنقطاع من ٦ – ١٨ زوج قاعدي تتداخل أو تتشابك في مواقع معينة .

إن أكثر فيروسات القرنبيط والذي دُرس كناقل للجين هو فيروس موزايك القرنبيط CaMV) إن كل من الفيروس والحمض النووي DNA المعزول منه معدية ، تسبب إصابات جهازية للعائل وتنتج حوالي نصف مليون من جزيئات

الفيروس في كل خلية . مع أن الـ DNA الفيروسي ينسخ في نواة النبات فإن النسخة الناتجة تكون (mRNA) والتي تنقل إلي الستوبلازم، فإما أن mRNA يخضع لنسخ عكسي بواسطة أنزيم النسخ العكسى reverse transcriptase وينتج الخيط السالب (-) من (DNA) والذي ينتج عنه الخيط الموجب (+) DNA وكذلك الخيط المزدوج من DNA ، أو أنه يترجم إلي عديد من البروتينات (شكل رقم ٦٩) شاملة غطاء الفيروس البروتيني، والـ DNA الفيروسي لا يندمج مع المجموعة الوراثية للنبات ولا حتى ينتقل خلال البذرة .



شكل رقم ٦٩: يوضح الـــ DNA في فيروس موازيك القرنبيط

فيروسات الجوزاء :

Gemini viruses

يحتوى كل زوج فيروسي من فيروسات الجوزاء(فيروسات مزدوجة)على دائرة مفردة من الـــ DNA مفرد الخيط حوالي ٢٥٠٠ قاعدة إلا أنها تنتج خيط مزدوج من الـ DNA فى طور وسيط فى النواة، هذا الخيط المزدوج له القدرة لإصابة بروتوبلاست النبات ولكن عديدا من فيروسات الجوزاء لها مجموعة وراثية منقسمة تتألف من جزئين من الـــ DNA ذات حجم متماثل، أن كل فيروس من فيروسات الجوزاء يتكون من تجمعين من الجزيئات المزدوجة والتي لها أغطية بروتينية متطابقة ولكن الأحماض النووية التي فيها يعنى (DNAs) تتركب من سلاسل نيكليوتيدية مختلفة التركيب، تدخل فيروسات الجوزاء في نواة النبات وتتكاثر هناك. تنتقل هذه الفيروسات في الطبيعة بواسطة نطاطات الأوراق أو الذباب الأبيض وهي فيروسات عابرة وبصعوبة (إذا حدث) أن تنتقل ميكانيكيا .فيروسات هذه المجموعة تصيب كل من نباتات أحادية وثنائية الفلقة،

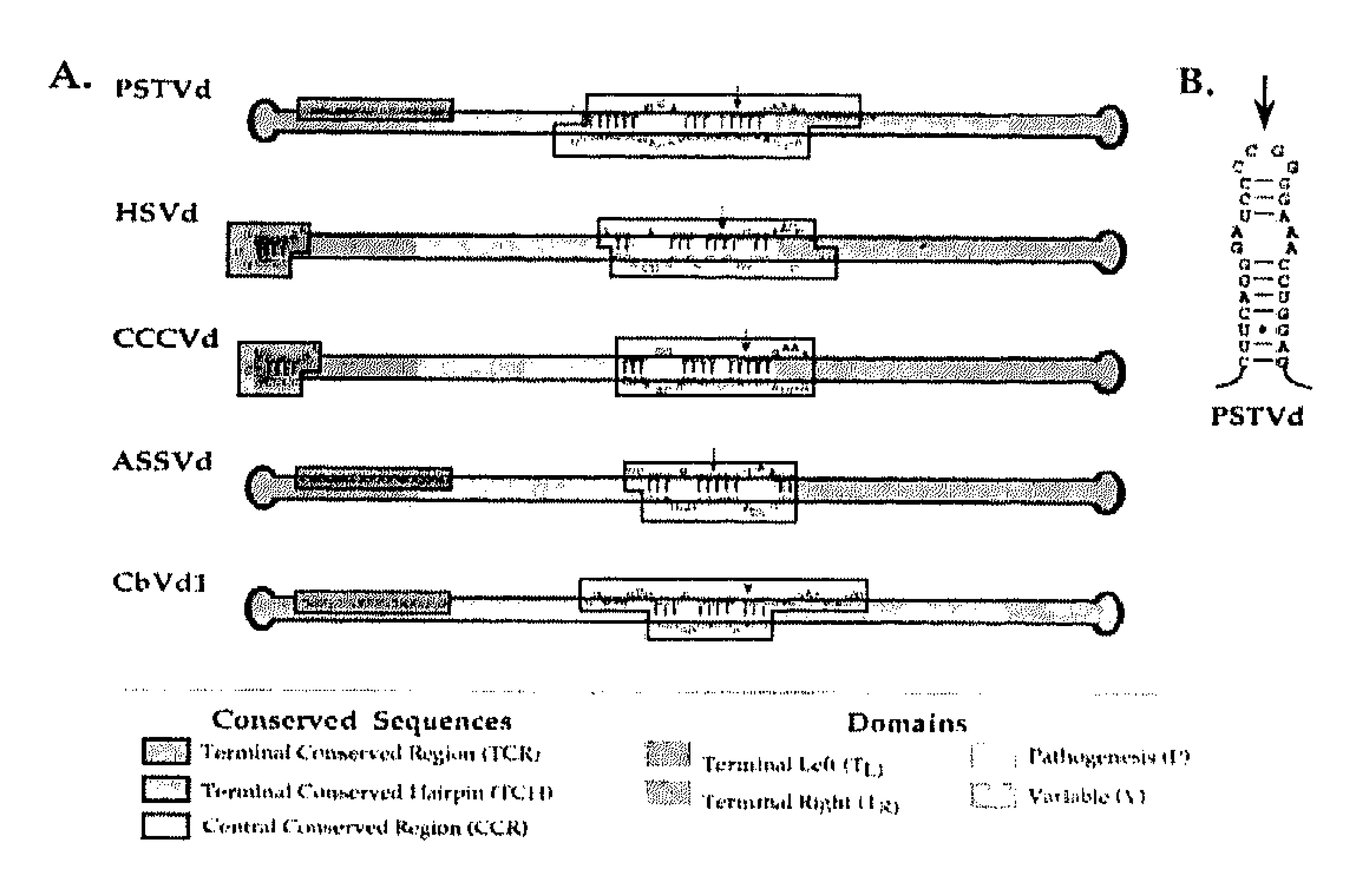
تنتقل هذه الفيروسات ميكانيكيا بالعصارة، إلا أن هناك إجراءات كثيرة قد ساعدت على زيادة تطوير وإستعمال فيروسات الجوزاء كعوامل ناقلة للجين النباتى حيث أمكن إنتاج نباتات طماطم مقاومة لفيروسات الجوزاء والتى تنتقل عن طريق الذبابة البيضاء وأظهرت النباتات المعدلة وراثيا مقاومة للفيروس تحت ظروف العدوى الصناعية داخل الصوب .

الفيروبدات :

Viroids

فيروسات بدون غلاف بروتينى وقد أطلق عليها داينر إسم Viroid لتمييزها عن الفيروسات الإعتيادية التي لها غلاف بروتيني تضم ثلاثة فيرويدات هي فيرويد درنة البطاطس المغزلية Potato spindle tuber viroid فيرويد تقزم الداودي Chrysanthemum stunt viroid فيرويد الإكسوكورتس في الحمضيات Citrus exocortis viroid تتكون هذه المسببات المرضية من حامض نووى RNA أحادي الخيط فقط ليس لها غلاف بروتينى، يتراوح وزنها الجزيئى بين ٥٠,٠٠٠ – ١٢٥,٠٠٠ دالتون، تنتقل هذه الفيرويدات ميكانيكياً، لها مدى عوائلى محدود، الفيرويدات صغيرة دائرية مفردة الخيط فيهاجزيئات الـ RNA عارية طولها ٢٠٠ – ٤٠٠ قاعدة وهي قابلة للنقل ميكانيكيا وتضاعف نفسها في نواة العائل وتصيب النبات جهازيا (شكل رقم ٧٠) .

إن بعضاً من هذه الصفات تجعلها مرشحة كعوامل ناقلة للمادة الوراثية في النبات ولكن إلى الآن لم يذكر أى منها كعامل ناقل .



شكل رقم ٧٠ :يوضح تركيب الـRNA فى عدد من الفيرويدات

العناصر القادرة علي التنقل :

Transposable element

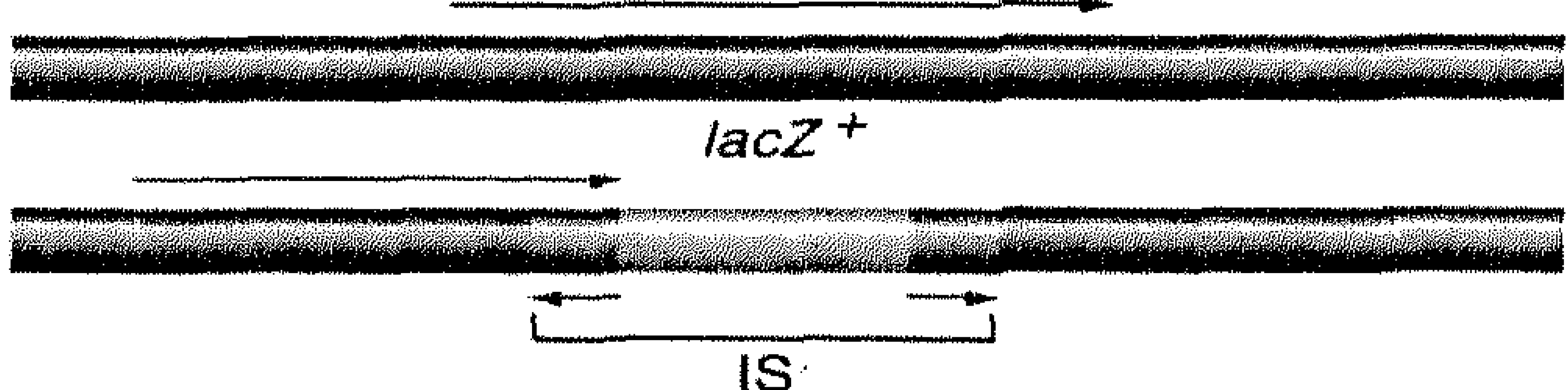
إن هذه العناصر هي قطعا من الــــ DNA من المحتمل أن تكــون مندمجـــة في المجموعة الوراثية في كل أنواع الكائنات ، لها صفات متنوعة ولكنهـــا كلهـــا تشترك في صفة ، أنه يمكنها أن تتحرك دائريا (يعني أنها قادرة علي التنقل) في الوحدة الوراثية وتندمج في مواقع مختلفة، فإذا إنتقلت هذه العناصر مـــن منطقـــة معينة إلى منطقة أخرى أدت إلى تعطيل عمل جين معين فقدته إظهـــار مفعولـــه الوراثى فإنها تؤدي إلي حدوث الطفرة . يمكن عزل العنصر القادر على التنقـــل و أن يزرع فى جين نباتي غريب وأن العنصر القادر علي التنقل المهجن يمكـــن أن يدخل في خلايا النبات أو البروتوبلاستس حيث تستطيع أن تصبح مندمجـــة فـــي المجموعة الوراثية في الخلية . ولكن إلى الآن لم يذكر أنه قد أجرى في النباتات . إن العناصر القادرة علي التنقل طبعا ، يمكن إستعمالها مع النباتات أحادية الفلقـــة بالإضافة إلي النباتات ثنائية الفلقة ، بينما نظام بلازميد - Ti يصيب ثنائية الفلقـــة (شكل رقم ٧١) .

(a) IS element structure

IS element

Inverted repeats

(b) IS insertion into *lacZ* gene



In $lacZ^-$ IS interrupts *lacZ* gene and prevents transcription of the entire gene.

(c) Tn10 structure

Transposon Tn10

IS10L

IS10R

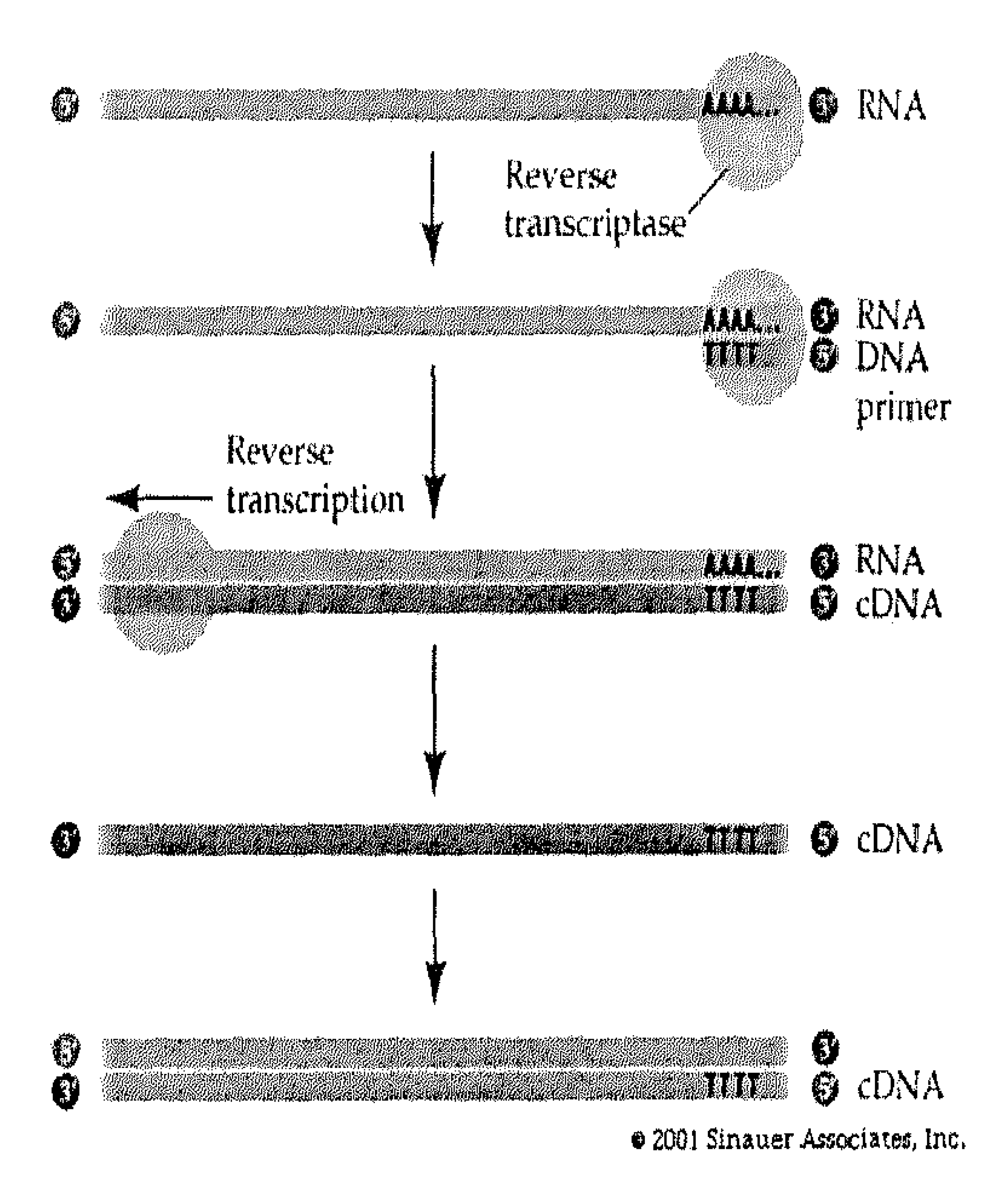
Gene for tetracycline resistance

شكل رقم ٧١ : يوضح العناصر الوراثية المتنقلة

تخليق الـDNA المتمم أو المكمل لـ mRNA :

فى هذه التقنية يستخلص الـmRNA الخاص بجين معين فى مرحلة معينة من نمو الخلية حيث يكون الجين أكثر نشاطاً مثل الجين المسئول عن تكوين التوكسين الذى ينتجه الكائن الممرض أوالجين المسئول عن تكوين الـ Phytoalexsans الفايتوالكسانات التى تنتج بواسطة العائل . هذا الـ mRNA المستخلص سواء من الكائن الممرض أو العائل يعاد نسخه بأنزيم النسخ العكسى reverse transcriptase لتبنى خيط مفرد من الـ DNA يسمى الـ cDNA ثم تهضم سلسلة الـ mRNA ثم يستخدم أنزيم آخرلبناء سلسلة أخرى للـ DNA (بواسطة أنزيم DNA polymerase) والذى يجعلها ثنائية الخيط cDNAs . كما هو موضح بالرسم(شكل رقم ٧٢) حيث يتم بعد ذلك أخذ هذه الخيوط المزدوجة المكملة للـmRNA والتى تماثل التتابع المشفر من الجين وتحميلها على بلازميد أو ناقل خاص والذى عادة ما يحمل جزيئ واحداً من (cDNAs) .

ويجب علينا أن نلاحظ هنا أن البلازميدات المستعملة تحمل جينات قد تكون للمقاومة للمضادات الحيوية أو أى جينات أخرى هذه البلازميدات يتم بعد ذلك ببكتيريا الـ *E-coli* والتى تستقبل البلازميدات هذا يعنى أن البكتريا تصبح محولة وراثياً Transformed .

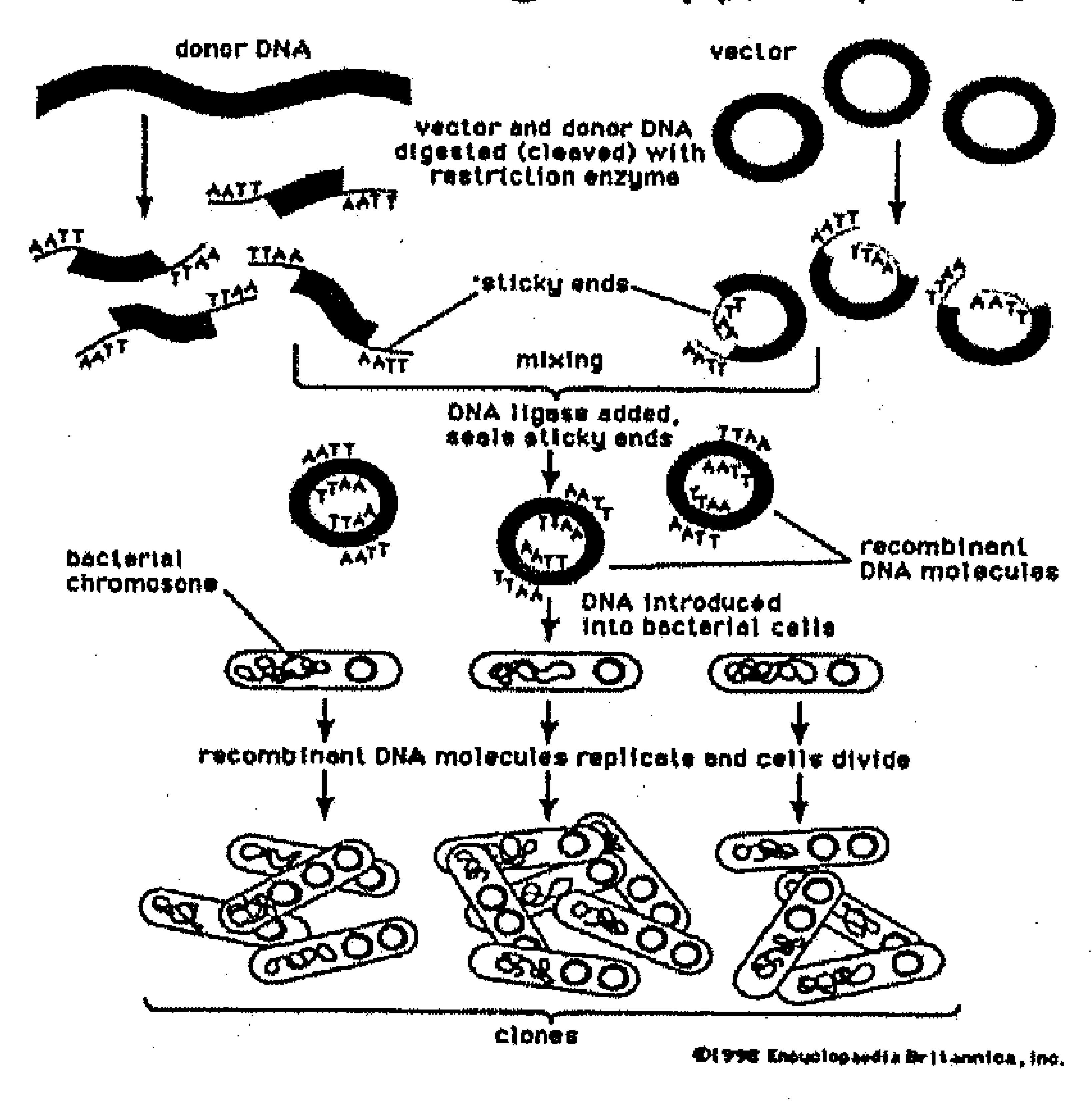


شكل رقم ٧٢: يوضح طريقة نسخ DNA من على RNA بإستخدام إنزيم النسخ العكسى

بعد ذلك يتم إنتخاب المستعمرات البكتيرية التى تحتوى الجين موضوع الدراسة ويتم إكثارها لتنتج كميات كبيرة كافية من الجين المطلوب أو من منتجاته البروتينية بعدئذ تستعمل المستعمرة البكتيرية لدراسات أخرى مستفيضة متضمنة عزل الجين ونقله .

عزل وإكثار جينات المجموعة الوراثية لكائن :

لعزل وإكثار جينات مرغوبة من المجموعة الوراثية لكائن يتم عزل خلايا مناسبة وإستخلاص الـ DNA منها والذى غالبيته تكون من النواة بالإضافة لـDNA من البلاستيدات والميتوكندريا وذلك بواسطة محاليل إنزيمية متخصصة يمكنها أيضاً عزل كل نوع من الـ DNA على حدا ثم ينقى الـ DNA ليتم بعد ذلك هضمه جزئياً بأحد إنزيمات القطع المحددة Restriction enzyme ليعطى قطعاً من الـ DNA قد تصل أحجامها إلى حوالى ٢٠٠٠٠ زوج من النيوكليوتيدات ، تؤخذ هذه القطع من الـ DNA وتخلط مع ناقل مناسب مثل البلازميد البكتيرى أو مجموعات وراثية محورة خاصة مثل الفاج البكتيرى Bacteriophage lambda حيث تؤخذ قطع الـ DNA بواسطة البلازميد أو بواسطة جينوم البكتريوفاج فى وجود أنزيم الـDNA ligase الذى يعمل على لحم النهايات اللزجة لقطع الـ DNA مع الناقل ليتم إكاثرها لتعطى نسخ عديدة من الجينات المختلفة للكائن (شكل رقم (٧٣). ليتم بذلك عمل المكتبة الجينية للكائن .



شكل رقم ٧٣ : يوضح إكثار الجينات من المجموعة الوراثية ال DNA

أهمية التكنولوجيا الحيوية فى أمراض النبات :

بدأت إنطلاقة التكنولوجيا الحيوية عن طريق بلازميد Ti الحامل لتتابع الـT-DNA المحدث للورم فى بكتيريا التدرن التاجى *Agrobacterium Tumefaciens* ثم بعد ذلك فيروس موازيك القرنبيط والفيروسات الأخرى والأنظمة الشبيهة بالفيروس .أصبح للتكنولوجيا الحيوية فضل كبير فى معرفة بعض جينات الشدة المرضية أو التثبيط فإذا حدث و أصبحت الجينات معروفة ومتوفرة لدينا عندها يمكن نقلها إلى كائنات حية دقيقة مضادة للكائنات الممرضة التى عندئذ يمكن إستعمالها على سطوح النبات لوقاية النباتات من الكائنات الممرضة .

بجانب دراسة جينات الشدة فى الكائنات الممرضة فإن معرفة طبيعة السلوك الوراثى لجينات العائل لمقاومة المرض عندما يكون من المحتمل إنتاج نسبة كبيرة من النباتات المقاومة لأمراض النبات بإستخدام التكنولوجيا الحيوية. فإن التوقعات والآمال بإذن الله كبيرة فى إستخدام التكنولوجيا الحيوية فى إنتاج نباتات مقاومة للمرض.

الخلاصة :

تعرف التكنولوجيا الحيوية في الإصطلاحات الحديثة بأنها المعالجة بالوسائل الميكانيكية والتحورات الوراثية ومضاعفة الكائنات الحية خلال طرق حديثة مثل مزارع الأنسجة والهندسة الوراثية مؤدية إلى إنتاج كائنات جديدة أو محسنة أو منتجات يمكن إستعمالها بطرق مختلفة .

الطرق المستخدمة فى زراعة الأنسجة هى :

أولا- مزرعة الكالس والخلايا المفردة، القمة المرستيمية ومزارع الإكثار الدقيق

ثانيا- تنمية أو زراعة البروتوبلاستس ثم يعامل البروتوبلاست بالطرق الاتية :

١. حقن البروتوبلاست بالفيروسات ودراسة تكاثر وفسيولوجية الفيرس .

٢. حقن البروتوبلاست بنواقل مهندسة وراثيا .

٣. إختيار النباتات المشتقة من البروتوبلاست المقاومة للإصابة المرضية والمقاومة لتوكسينات الكائن الممرض .

٤. حقن البروتوبلاست المصاب بالفيروس بمواد مضادة للفيروس .

٥. نقل جين المقاومة إلي االنباتات الغير متوافقة جنسيا .

ثالثا- أهمية مزارع المتوك فى إنتاج نباتات أحاديةالمجموعة الكروموسومية :

لأن خلايا الأنسجة أحادية المجموعة الكروموسومية كثيراً ما تتضاعف ذاتياً أو يمكن أن تُستحث على أن تتضاعف وذلك بمعاملتها بالكولشيسين والكيماويات الأخرى فيمكن الحصول على أنسجة متضاعفة المجموعة الكروموسومية والحصول على نباتات متماثلة ثنائية المجموعة الكروموسومية لجميع الجينات وتكون هذه االنبات الثنثايه مفيدة لدراسة تفاعل مثل هذه النباتات لبعض الكائنات الممرضة .

فى السنوات العشر الماضية حدث تطور هائل فى تطبيقات الهندسة الوراثية والتي أمكن بواسطتها إنتاج ، هرمونات النمو واللقاحات المضادة للفيروسات Vaccines بواسطة بكتريا الأمعاء Escherichia coli وخلايا الخميرة حيث تستخدم عوامل لنقل الجين المرغوب من كائن إلى آخر بواسطة البلازميد والفاج والكوزميد والفيرويدات والعناصر المتنقلة بإستخدام أنزيمات القطع والإلتحام .

الأسئلة :

١. عرف كل من زراعة االأنسجة والهندسة الوراثية .؟

٢. ماهى طرق زراعة الأنسجة وما هى أنسب طريقة للحصول على نباتات مقاومة ؟

٣. عرف الهندسة الوراثية وما أهميتها للحصول على نبات مقاوم ؟

٤. ماهى ناقلات الكلونة، وكيف يتم نقل الجين خلالها ؟

٥. عرف Tiبلازميد وفيروس موزايك القرنبيط ؟

أجب بنعم أولا :

أ- زراعة الأنسجة هى زراعة أجزاء نباتية بغرض الحصول على نبات متماثل وراثيا .

ب- النباتات المحولة وراثيا تُظهر عدم ثبات كبير تحت ظروف بيئية معينة .

ت- إندماج البروتوبلاست يؤدى الى العقم فى كل الحالات .

ث- مزارع المتوك سببا فى الحصول على نباتات ثنائية متماثلة .

ج- تستخدم أنزيمات محددة لقطع DNA وهى نفس الإنزيمات للصق .

ح- من أشهر البلازميدات هو بلازميد Agrobacterium .

خ- تكاثر الجين هو cDNA .

د- يمكن تكوين DNA من mRNA .

الفصل الثالث

المحتوى البلازميدي للأجروبكتيريم وعلاقته بالمقدرة المرضية

الأهـــداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يعرف ما هى الأجروباكتيريم ومحتواها البلازميدي وما تسببه مـن أمـراض للنبات وعلاقة قدرتها المرضية بمحتواها البلازميدي .

٢- يستوعب كيف تسبب الأجروباكتيريم مرض التدرن التاجي فى النبات وكيـف يمكن استخدامها فى نقل الجينات إلى النباتات لهندسة المحاصيل الحقلية وراثيا.

٣- يعرف الفروق الرئيسية بين الأجروباكتيريم والرايزوبيم على أساس المحتـوى البلازميدي لكل منهم كونهم كائنات تتبع نفس العائلة .

٤- يستوعب دور الهندسـة الوراثيـة فـي تطـور طـرق المكافحـة الحيويـة للأجروباكتيريم من خلال استخدام طرق الهندسة الوراثية في إستئصال منطقـة Transfer region (Tra) والتى لها علاقـة بتحريـك agrocin plasmid لإنتـاج طافرات من السلالة K84 وهى السلالة *A. radiobacter K1026* .

٥- يفهم أهمية استخدام السلالات المهندسة وراثيّاً حالياً فى أسـتراليا بـدلاً مـن السلالة K84 فى برامج المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم .

٦- يعي دور السلالة K1026 كأول سلالة تتم هندستها وراثيّـاً اسـتخدمت فـى المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم ، علما بأنها تطابق فى كل الصـفات جميـع السلالات الطبيعية الأخرى منها والتى تنتمى لنفس السلالة.

٧- يستوعب أهمية منطقة T-DNA الموجودة فـى Ti- plasmid فـي اسـتخدام الأجروباكتيريم *A. tumefaciens* فى برامج الهندسة الوراثيـة كـون منطقـة T-DNA تنفصل عن البلازميد وتلتحم بجينوم الخلية النباتية عندما تحدث لهـا إصابة بالأجروباكتيريم .

٨- يفهم أن أى جزىء DNA غريب يتم التحامه بمنطقة T-DNA فإنـه سـوف يحدث له التحام بجينوم الخلية النباتية إذا ماأصيبت بالأجروباكتيريم٠

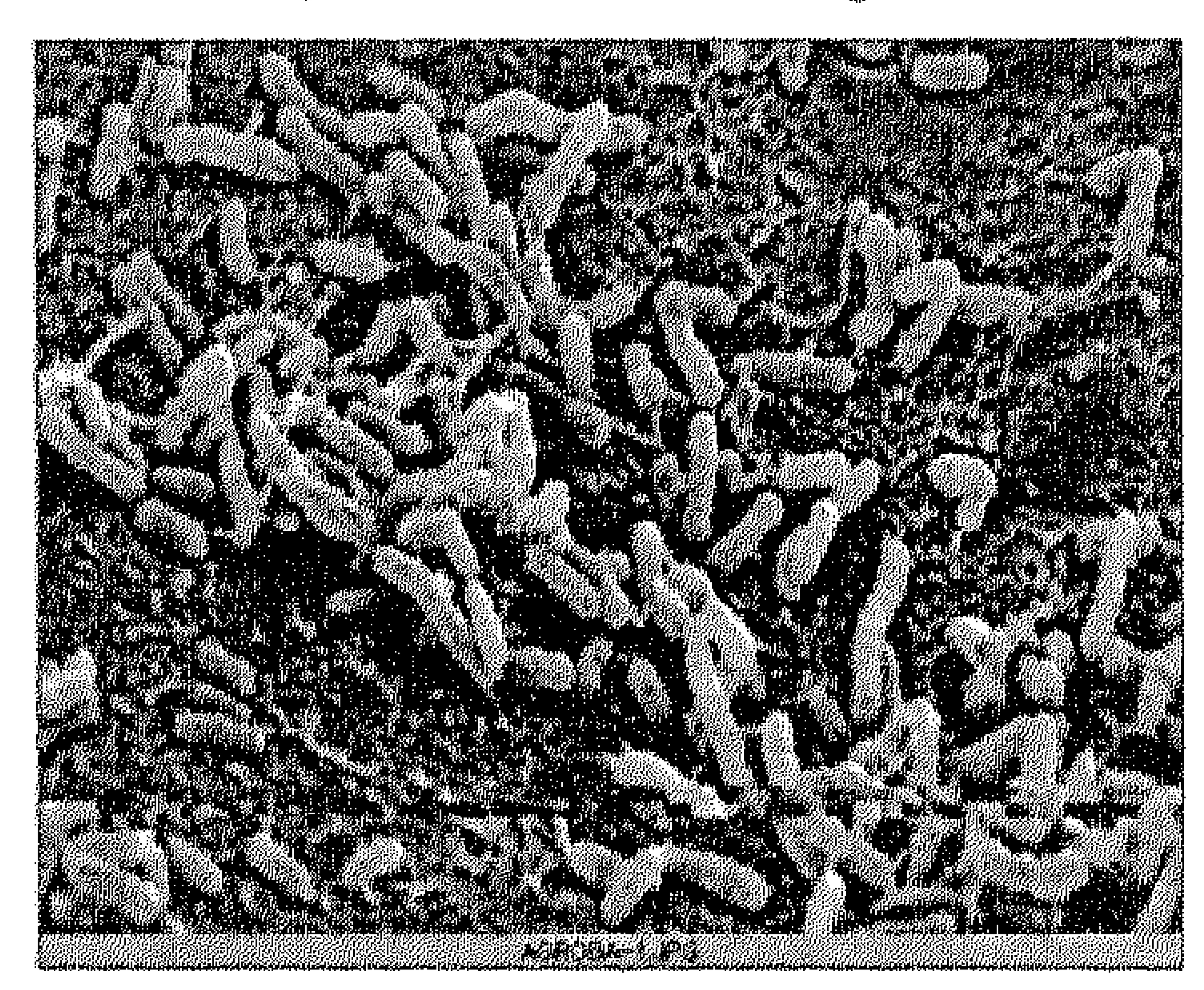
٩- يعي اكتشاف العالم Kerr لنظام المكافحة البيولوجية للـ A. tumefaciens من خلال عزل السلالات غير الممرضة من *Agrobacterium radiobacter* وهـي السلالة K84 strain والتى عملت على الوقاية من الإصابة ومـن المـرض بشكل تام عندما أضيفت للمواقع المجروحة بمعـدل ١ : ١ منسـوبة لخلايـا *A. tumefaciens* .

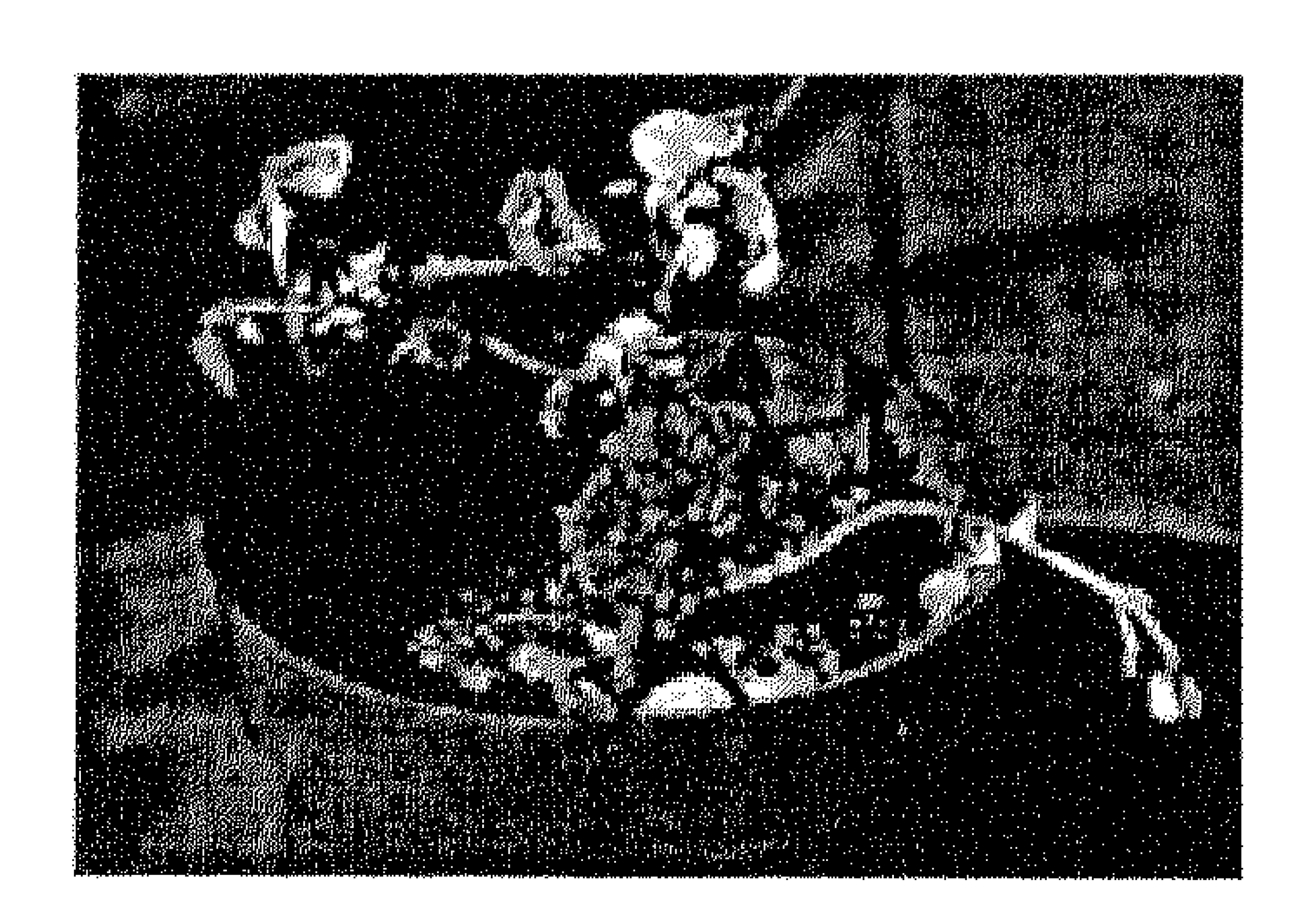
١٠- يوضح أن سلالات *A. radiobacter* strain K84 هى السـلالات التـى تـم اكتشافها وتكوينها بواسطة Allan Kerr فى استراليا ، والتى قد تم استخدامها فى أستراليا منذ عام ١٩٧٣ كأول سلالة استخدمت فى المكافة البيولوجيـة علـى النطاق التجارى لأى مرض نباتى .

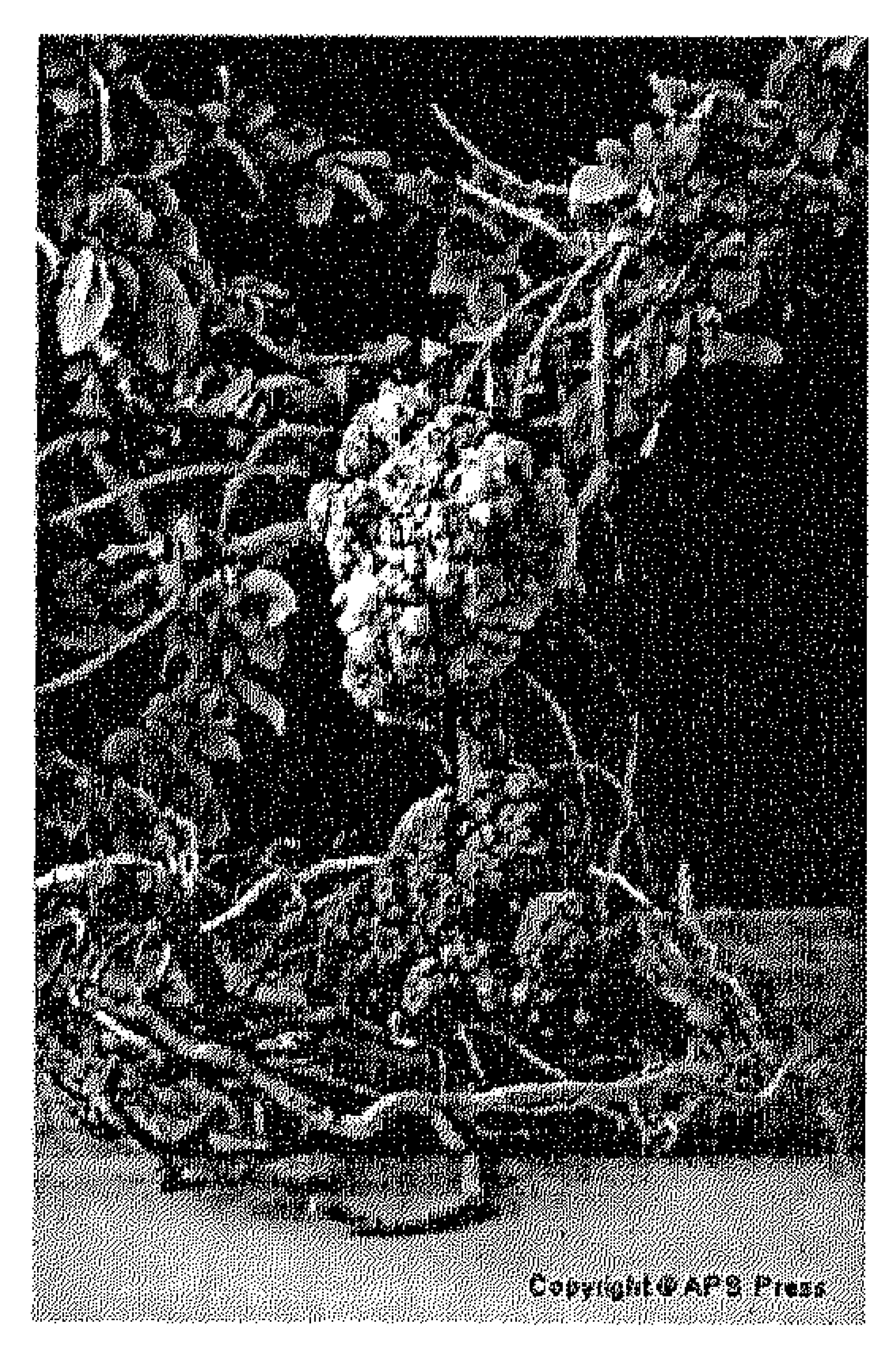
مقدمة :

ينشأ عن الأجروبـاكتيريم *Agrobacterium tumefaciens* مـرض التـدرن التاجي فى مدى واسع من النباتات ذوات الفلقتين ، خاصة تلك التى تتبـع العائلـة الوردية مثل التفاح ، الكمثرى ، الخوخ ، الكريز (القراسيا) ، اللوز ، التـوت ، الورد٠ وهذه السلالة من الأجروباكتيريم يتبعها ثلاثة أنواع تسبب مرض التـدرن التاجي للعنب . وقد أخذ اسم المرض الذى تسـببه الأجروبـاكتيريم مـن النمـو السرطانى الكبير الذى يحدث فى منطقة التاج للنبات ويسبب عادة أضراراً كبيـرة للنباتات القديمة فى العمر ، وهذا المرض من أكثر الأمراض المعروفـة لعلاماتـه البيولوجية الواضحة التى تشاهد على النباتات . وعلى هـذا الأسـاس فـإن هـذه البكتيريا تقوم بنقل جزء من محتواها من DNA إلى النبـات ، وهـذا الـ DNA يحدث له اندماج مع جينوم الخلايا النباتية مسبباً نشأة التورمات والتى عـادة مـا يصاحبها تغيير فى ميتابولزم الخلايا النباتية ، والأشكال التالية توضح أعراض هذا المرض على النبات والشكل الميكروسكوبى لخلايا الأجروباكتيريم (شكل رقم ٧٠، ٧١) .

شكل رقم ٧٤ . يوضح الشكل الميكروسكوبى لخلايا الأجروباكتيريم







شكل رقم ٧٤ . يوضح مرض التدرن التاجى الذى تسببه الأجروبكتيريم

ولذلك فإن طبيعة هذه البكتريا تمكننا من استخدامها فى مجال تربية النبات لنقل الجينات إلى النباتات ، وبذلك فإن الجينات المراد نقلها للنبات مثل الجينات المنتجة للمواد البروتينية السامة المضادة للحشرات (Insecticidal toxin genes) الموجودة فى الباسيلس ثيرونجنسز أو جينات المقاومة للحشائش ، يمكن إدخالها فى DNA البكتيرى للأجروباكتيريم الأمر الذى يتيح إمكانية حقنها داخل جينوم النبات . ولذا فإن استخدام الأجروباكتيريم ليس قاصراً فقط على عمليات تربية النبات بل أيضاً يمكن استخدامها فى نقل الجينات غير النباتية لهندسة المحاصيل الحقلية وراثياً . وهذه النظرية جعلت من الأجروباكتيريم واحداً من أكثر الاهتمامات فى الدراسات التفصيلية فى مجال التكنولوجيا الحيوية ، وبذلك فالمرض الذى تسببه الأجروباكتيريم يمكن مكافحته بيولوجيا بكفاءة عالية جداً. حيث توجد ثلاثة اعتبارات رئيسية لهذا المرض اللعين المسمى بمرض التدرن التاجى والذى تكمن أخطاره بشدة مع النباتات القديمة فى العمر ، وهذه الاعتبارات هى :

١- بيولوجية هذه البكتيريا وعمليات إصابتها للنبات .

٢- تكوين أنظمة مكافحة بيولوجية ناجحة جداً ضد مرض التدرن التاجى .

٣- الاستخدام الواسع للأجروباكتيريم كأداه فى مجال الهندسة الوراثية للنبات .

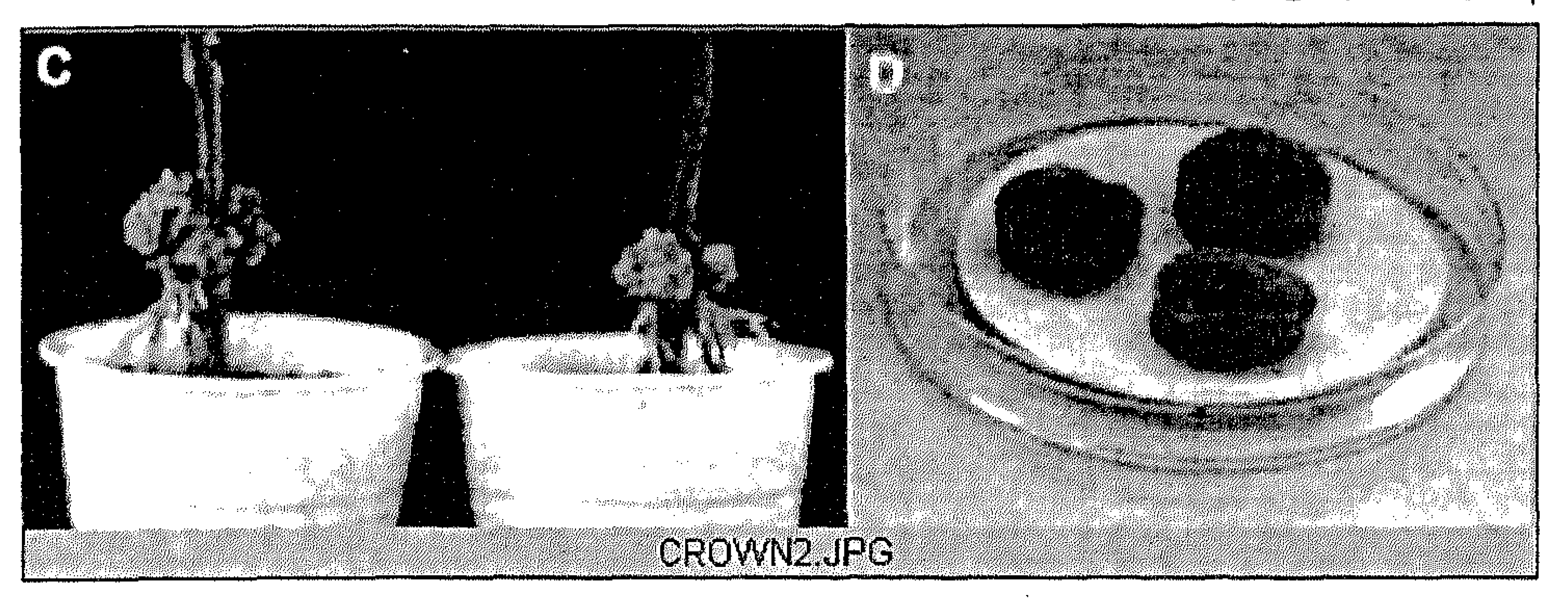
الأجروباكتيريم ومحتواها البلازميدى :

الأجروباكتيريم *A. tumefaciens* هى من الكائنات الدقيقة السالبة لصبغة جرام، ولا تكون جراثيم ، شكلها عصوى ، قريبة جداً من الرايزوبيوم التى تكوّن عقداً يتم فيها تثبيت النيتروجين الجوى على البرسيم والنباتات البقولية الأخرى. وتقسم سلالات الأجروباكتيريم إلى ثلاث مجموعات على أساس تمثيلها لمصادر مختلفة من الكربوهيدرات . الإختبارات البيوكيماوية الأخرى والاختلافات بين هذه المجاميع الثلاثة Biovars يتم تحديدها بواسطة الجينات المحمولة على الكروموسوم البكتيرى الدائرى . وهذه الاختلافات لا يتم تحديدها من خلال الأعراض المرضية للأجروباكتيريم ، فمعظم الجينات الموجودة فى منطقة التدرن التاجى ليست محمولة على كروموسوم الأجروباكتيريم بل تحمل على بلازميد كبير الحجم يسمى بالـ Ti-plasmid (Tumor – inducing plasmid) ، بينما معظم الجينات التى تمكن سلالات الرايزوبيا من تكوين عقد جذرية يتم بها تثبيت النيتروجين توجد أيضا على بلازميد كبير يسمى Symbiotic (Sym) plasmid .

لذلك فإن التصنيف البيولوجى لهذه البكتيريا يعتمد أساساً علـى البلازميـدات وليس على الكروموسوم البكتيرى. وهنا نود توضيح أن البلازميد هو عبارة عـن حلزون حلقى من DNA يوجد منفصلاً عن الكروموسوم البكتيرى وله القدرة على التضاعف مستقلاً عن الكروموسوم الرئيسى للخلية وله القدرة على أن ينتقل مـن خلية بكتيرية لأخرى بواسطة التزاوج. والبلازميدات تقوم بالتعبير عـن وظـائف غير هامة لحياة الخلية فى الغالب ، وفى هذه الحالة فإن الخلايا البكتيرية تسـتطيع أن تنمو فى الأوساط البيئية العادية حتى إذا فقدت بلازميداتها. ويمكـن ملاحظـة الدور الرئيسى للبلازميدات فى الخلايا البكتيرية بواسطة استئصالها من السلالات ، وفى هذه الحالة إذا كانت البكتيريا نموها يقترب من النمو عند أقصى درجة حرارة وهى حوالى ٣٠ °م بالنسبة للأجروباكتيريم والرايزوبيوم فإن هذا يعنى حينئذ فقـد البلازميد ، وأن المقدرة المرضية فى حالة الأجروباكتيريم والمقدرة على تكـوين العقد الجذرية فى حالة الرايزوبيوم قد فقدا. ومع ذلك فإن عملية فقد البلازميد لـم تؤثر على نمو البكتيريا فى المزارع حيـث إن الخلايـا البكتيريـة الخاليـة مـن البلازميدات تعتبر خلايا نشطة من الناحية الوظيفية . وتسبب عمليـة إدخـال Ti-plasmid فى خلايا الرايزوبيوم تكوين تورمات ، بينما تسبب عملية إدخال Sym plasmid فى الأجروباكتيريم تكوين ما يشبه العقد من الناحية التركيبية ولكنها غير فعالة من الناحية الوظيفية .

عملية الإصابة بالأجروبا كتيريم :

توجد الأجروباكتيريم بشكل عام فى المنطقة المحيطة بسطح الجـذور والتـى تسمى بمنطقة الريزوسفير حيث تعيش فى تلك المنطقة مستخدمة العناصر الغذائية التى تسيل أو تتسرب من أنسجة الجذور ، ولكنها لا تستطيع إحداث الإصابة إلا من خلال الأماكن المجروحة سواء طبيعيًا أو تلك الناتجة عـن العمليـات الزراعيـة المختلفة. وعلى سبيل المثال إذا وضع على ساق نباتين متقدمين فى العمـر مـن الطماطم معلق من خلايا الأجروباكتيريم *A. tumefaciens* وقد تم عمل جرح فـى هذه المنطقة فإنه بعد خمسة أسابيع سوف تظهر النموات السرطانية ، أما إذا وضع معلق من خلايا الأجروباكتيريم على سطح القطع الدائرية الطازجة المقطوعة مـن الجزر فى أطباق معملية كما هو موضح فى الشكل التالى (شكل رقم ٧٥) فإنـه وبعد حوالى أسبوعين سوف تتكون نموات من الأنسجة الميرستيمية تحيط بالنظـام الوعائى المركزى.



شكل رقم٧٥ . يوضح أنه إذا وضع معلق من خلايا الأجروباكتيريم على سطح القطع الدائرية الطازجة المقطوعة من الجزر فإنه بعد حوالى أسبوعين سوف تتكون نموات من الأنسجة الميرستيمية تحيط بالنظام الوعائى المركزى (يمين الشكل) ، وظهور النموات السرطانية بعد خمسة أسابيع من العدوي لساق نباتين من الطماطم متقدمين فى العمر وضع عليهما معلق من خلايا الأجروباكتيريم *A. tumefaciens* بعد عمل جرح فى هذه المنطقة (يسار الشكل)

وتحت الظروف الطبيعية تنجذب خلايا الأجروباكتيريم للمناطق المجروحة ، وهذا جزء من استجابة الخلايا للسكريات المتحررة ونواتج الجذور بوجه عام . وهذه الخاصية توجد حتى فى الخلايا البكتيرية المتحررة من البلازميدات والتى فقدت بلازميداتها ، بينما الخلايا البكتيرية المحتوية على Ti plasmid تستجيب لهذه الظروف بشدة أكبر ، وهذا لأنها تتعرف على المركبات الفينولية فى المناطق المجروحة مثل Acetosyringone حيث تنجذب إليها بسرعة عند التركيزات المنخفضة منها والتى تصل إلى $١٠^{-٧}$ مولر Molar ، وذلك لأن Ti plasmid يعبر عن وظائف إضافية بالخلايا تتعلق بمستقبلات خاصة Specific chemotactic receptors توجد بداخل الغشاء البكتيرى وتمكن الخلايا البكتيرية من التعرف على المناطق المجروحة ، حيث تلعب المركبات الفينولية مثل Acetosyringone دورا رئيسيا فى عملية الإصابة ؛ لأنه عند التركيزات العالية التى تتراوح مابين $١٠^{-٥}$ إلى $١٠^{-٤}$ مولر يحدث تنشيط لجينات الإصابة Vir genes (Virulence genes) الموجودة على Ti plasmid والتى بدورها تحفز من عملية الإصابة للنباتات وخاصة أنها تعمل على ما يلى :

١-تؤدى إلى إنتاج البروتينات مثل Permeases والتى تدخل فى غشاء الخلايا البكتيرية لتعمل على التقاطها للمركبات المزعومة (Opines) والتى سوف يتم إنتاجها بواسطة النموات السرطانية النباتية .

٢-تسبب إنتاج إنزيم Endonuclease وهو أحد إنزيمات القطع والذى يعمل على قطع منطقة T-DNA (Transferred DNA) من Ti-plasmid.

وكما هو معروف أن جزء DNA المثار أو المهيج وهو منطقة T-DNA تتحرر من خلايا الأجروباكتيريم وتدخل فى الخلية النباتية حيث تندمج مع كروموسومات الخلية النباتية وتسيطر على وظائف تلك الخلايا ، ولازالت الميكانيكية الحقيقية لانتقال DNA غير واضحة ، ولكن يستلزمها ظروفاً خاصة ، فربما تتحدد بواسطة إنتاج الأجروباكتيريم للـ Cytokinins (وهى هرمونات نباتية) ، حيث يشفر جين (Transzeatin (Tzs الموجود على Ti-plasmid إلى الهرمون .

ومن المهم هنا أن نلاحظ أن جزئاً صغيراً من البلازميد وهو T-DNA هو الذى يدخل للخلية النباتية ، أما باقى البلازميد فإنه يستمر وجوده فى الخلية البكتيرية ليقوم بأدوار أخرى ، وعندما يندمج هذا الجزء فى جينوم الخلية النباتية فإن الجينات الموجودة على منطقة T-DNA تشفر إلى :

- إنتاج السيتوكينينات Cytokinins .
- إنتاج Indoleacetic acid .
- تخليق وتحرر نواتج عمليات التمثيل الغذائى الجديدة فى النبات وهى Opines، Agrocinopines .

والسؤال الآن هو : ما هى التغيرات الوراثية التى تحدث بين البكتريا فى الظروف الطبيعية ؟

عندما يتم عزل البكتريا من على سطح جذور النباتات فى الطبيعة أو من بيئة المحاصيل الحقلية المنزرعة نجد أن معظم السلالات (حوالى ٩٠% أو أكثر) غير مرضية حتى إذا تم عزلها من النباتات المصابة. هذه السلالات غير المرضية تنتمى للـ *Agrobacterium radiobacter* ، ولذلك فإنه يمكن لنا أن نستنتج أن الأجروباكتيريم تقطن بالضرورة منطقة الريزوسفير وأن نسبة بسيطة منها هى المرضية وهى تلك التى تحتوى على Ti-plasmid. وعلى نفس المنوال فإن ما يشبه ذلك هى سلالات الرايزوبيوم التى تعزل من منطقة الجذر ولها المقدرة على تكوين عقد جذرية على النباتات .

وعلى العموم فإن الأجروباكتيريم توجد أساساً فى منطقة الريزوسفير وذلك لأن السلالات الممرضة من الأجروباكتيريم تستجيب بسرعة للمناطق المجروحة فى حالة وجود عشائر ثابتة من الأجروباكتيريم تقطن منطقة الجذر • ونظرا لأن Ti-plasmid هو Conjugative plasmid فإنه يمكن له أن ينتقل من خلية لأخرى . وتحت الظروف المعملية فإن انتقال هذا البلازميد من خلال التزاوج يتم تنظيمه بشدة من خلال وجود nopaline ؛ ولذا فإنه من الواضح أن السلالة الممرضة من الأجروباكتيريم تخلق الظروف المناسبة وهى إنتاج nopaline من الأماكن المجروحة المصابة والتى تمكنها من انتقال محتواها البلازميدى لسلالات أخرى فى منطقة الريزوسفير .

المكافحة البيولوجية لمرض التدرن التاجى :

نود هنا الإشارة إلى أن مكافحة الأمراض البكتيرية أمر فى غاية الصعوبة وذلك لنقص الكيماويات الفعالة فى هذا الإطار • كما أنه يمكن استخدام المضادات الحيوية إلا أنها غالية الثمن ، وعلى العموم فإن أى مركبات متاحة لعلاج الإنسان لا يمكن إباحتها للاستخدام فى مجال الزراعة . فمعظم الخيارات الفعالة هى استخدام مركبات النحاس والتى تعتبر ذا كفاءة فعالة ضد الفطريات Phytotoxic• بينما سلالات الأجروباكتيريم من النوع nopaline-producing strains of *A. tumefaciens* تعتبر ذو كفاءة عالية جداً فى نظام المكافحة البيولوجية وهى السلالات التى تم اكتشافها وتكوينها بواسطة Allan Kerr فى أستراليا والتى قد تم استخدامها فى أستراليا منذ عام ١٩٧٣ وتعتبر هى أول سلالة مستخدمة فى المكافحة البيولوجية على النطاق التجارى لأى مرض نباتى. وقد تم استخدامها الآن على نطاق واسع فى العالم بواسطة العديد من الشركات تحت مسميات عديدة منها Galltrol .

وقد اكتشف العالم Kerr هذا النظام فى المكافحة البيولوجية بواسطة عزل السلالات غير الممرضة من *Agrobacterium radiobacter* من المواقع المصابة واختبار قدرتها التنافسية مع السلالات الممرضة فى خليط من لقاحات كلتا السلالتين، فوجد أن العديد من السلالات غير الممرضة عملت على انخفاض معدل الإصابة ، بينما سلالة واحدة فقط بصفة خاصة وهى *A. radiobacter strain K84* عملت على الوقاية من الإصابة والمرض بشكل تام عندما أضيفت للمواقع المجروحة بمعدل ١ : ١ منسوبة لخلايا *A. tumefaciens*• وهذه السلالة من

الأجروباكتيريم المستخدمة فى المكافحة الحيوية تعتبر واحدة من السلالات المسجلة فى هذا النظام الحيوى. ويتم تداولها على بيئة الأجار أو فى Peat substrate ، والتى بدورها يمكن استخدامها من خلال عمل معلق منها فى الماء ، ثم توضع فيه البذور ويجرى جرح البذور أو المادة الحية فى هذا المعلق قبل الزراعة ، حيث يأخذ من هنا العلاج الواقى من الإصابة ؛ ولذا يجب استخدام المعلق بكثافة عالية جداً لحماية أى مواقع مجروحة ضد المسببات المرضية .

طبيعة فعل السلالة المستخدمة فى المكافحة البيولوجية

A. radiobacter strain K84 :

اتضح من الدراسات المعملية أن أعلى كفاءة فى المكافحة البيولوجية للأجروباكتيريم كانت بواسطة سلالات *A. radiobacter* strain k84 مقارنة بالسلالات الأخرى ، وهذا يرجع لإنتاج هذه السلالة لمادة مثبطة فى المزارع المعملية. فلقد وجد أن سلالات الأجروباكتيريم التى يحدث لها تثبيط فى تجارب الأطباق المعملية هى سلالات *A. tumefaciens* المحتوية على nopaline-type Ti plasmid ، وقد وجد أن هذه السلالات فقط هى التى يتم السيطرة عليها بيولوجيا بكفاءة بواسطة سلالة الأجروباكتيريم K84 فى اختبارات النباتات. ولسوء الحظ ، فإن السلالات التى تقوم بتمثيل nopaline هى السلالات المرضية بوجه عام فى العديد من المواقع الزراعية والبستانية. أما السلالات المرضية المحتوية على البلازميدات من النوع octopine-agropine type لا يحدث لها تثبيط ولا حتى بالسلالات غير المتعلقة أو تنتمى لجنس البكتريا .

وعلى العموم فإن المضادات الحيوية ذات المدى الواسع لها طبيعة فعل مماثلة لمركبات Bacteriocins التى تنتجها العديد من السلالات البكتيرية مثل *E. coli*. بينما الذى لا يشبه معظم Bacteriocins هى التى تكون bacteriocin, proteinaceous المنتجين بواسطة السلالة K84 والتى وجد أن لهما نفس التركيب وتسمى بالـ agrocin 84 ، حيث توجد بهذا المركب نيوكلتيدة أدنين مع مجموعتين سكر ومجموعة فوسفات ترتبط بذرة الكربون رقم ٦ بالإضافة إلى Methylated pentanamide .

تحتوى السلالتين الممرضتين ٥٢٩ ، T57 على Ti plasmid والــذى يقــوم بإنتاج nopaline ويتم مكافحتهم بيولوجيا بواسطة السلالة K84 ، بينمـــا تحتـــوى السلالتين ٥٠٢ ، ٨١٥٠ على Ti plasmid والذى يقوم بإنتاج Opines أخرى ولا يمكن مكافحتهما بيولوجيا بواسطة السلالة K84 .

ويتم توضيح السمية الانتخابية للـــ agrocin 84 بالنسبة للســـلالات المنتجـــة للنوبالين nopaline producing strains من خلال ما تسببه هذه السلالات نحو قيام النبات بإنتاج Agrocinopines ، قيام Ti plasmid بتشفير إنتـــاج Agrocinopine permease لتقوم بالتقاط هذه العناصر الغذائية ، حيث يتم التقاط Agrocin 84 مـــن خلال هذا الـــ Permease (والذى يتعرف على مجموعة السكر ، ويقوم بقفل نظام تخليق DNA فى هذا المسبب المرضى) ٠

تطور عملية المكافحة الحيوية ومشاكلها :

تعتبر سلالة *A. radiobacter* strain K84 فى الغالب من أفضـــل الســـلالات التى يمكن استخدامها فى المكافحة الحيوية ، فإذا حاولنا إيجـــاد وســـيلة للمكافحـــة الحيوية للأجروباكتيريم فإن هذه السلالة سوف تكون أفضل الســـلالات فـــى هـــذا البرنامج ، وتحتوى هذه السلالة على البلازميد المسمى pAg K84 والـــذى يقـــوم بتشفير إنتاج agrocin 84 ، كما تحتوى أيضا على بلازميـــد اخـــر وهـــو pNOC والذى يقوم بتشفير إنتاج التقاط وهدم nopaline ٠ ولذلك فإنـــه تحـــت الظـــروف الطبيعية ربما تفضل السلالة K84 التواجد فى المناطق التاجيـــة حيـــث إن هـــذه المناطق تعتبر مصدر للعناصر الغذائية مثل Opines ، ولذا تعمل تلك السلالة على قتل المسبب المرضى بواسطة إنتاجها للـــ agrocin84 ، وبالإضافة لهذه النقـــاط نجد أن السلالة K84 تعتبر ذات كفاءة عالية جداً فى تكوين مستعمرات على جذور النباتات السليمة وعلى المناطق المجروحة معطية على الأقـــل بعـــض درجـــات المقاومة التى تبقى فى المكان بعد تطبيق استخدامه ٠ ولـــذلك فـــإن كفـــاءة هـــذه السلالات فى تكوين المستعمرات والبقاء على الجذور يتحكم فيها على الأقل بعض الجينات المحمولة على الكروموسومات .

أوضـــحت دراســـات عـــــــديدة أن انتقـــال (agrocin plasmid (pAg K84 لسلالات أخرى من *A. radiobacter* يترتب عليه أن تصبح كفاءة هذه الســـلالات ضعيفة مقارنة بالسلالة K84٠ ومن أحد المشاكل التى تواجه استمرار النجاح لنظام

المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم ، هى انتقـــال agrocin plasmid مـــن الناحيـــة النظرية لخلايا أخرى متضمنة خلايا السلالات الممرضة، وقد لوحظ ذلـــك تحـــت الظروف المعملية ، وإذا حدث هذا فى الطبيعة فإنه سوف يتسبب فـــى أن تصـــبح السلالات المرضية مقاومة للـــ agrocin-84 ، وذلك علماً بأن كل الكائنـــات التـــى تنتج مثبطات تتسبب بالضرورة فى أن تصبح هذه السلالات فى الغالـــب مقاومـــة لتأثير مثل هذه المثبطات، وقد اتضـــح أن agrocin plasmid لـــيس لـــه علاقـــة بالتزاوج ولكن بلازميد pNOC والذى يوجد فى السلالة التى تستخدم فى المكافحـــة الحيوية هو بلازميد له علاقة بالتزاوج حيث يســـتطيع تحريـــك agrocin plasmid خلال عملية التزاوج مما يؤدي إلى انتقال المادة الوراثية بين السلالات .

يعمل وجود nopaline على تعزيز تكرار عملية انتقـــال المـــادة الوراثيـــة، ولتجنب المشاكل التى تؤثر على المكافحة الحيوية فإنه يمكـــن باســـتخدام طـــرق الهندسة الوراثية استئصال منطقة Transfer region (Tra) والتى لها علاقة بتحريك agrocin plasmid لإنتاج طافرات من السلالة K84 هى السلالة *A. radiobacter* K1026 و تسمى Transfer deleted - Tra . وقد استخدمت هذه السلالات المهندسة وراثياً حالياً فى أستراليا بدلاً من الســـلالة K84 ، واتضـــح أن هـــذه الســـلالات المهندسة وراثياً لها كل مميزات وأمان السلالة K84 والتى يمكن إضـــافتها دائمـــا للتربة فى برنامج المكافحة البيولوجية، وهنا أود أن أشير إلى أن الســـلالة K1026 هى أول سلالة تم هندستها وراثيّا واستخدمت فى البيئة وهى آمنة بالنسبة لكل مـــن الإنسان والحيوانات الأخرى (التى لا تستطيع الحياة عند ٣٧ °م) والنبات ، وفيمـــا عدا استئصال الجزء من الجينوم الخاص بها إلا أنها تطابق فى كل الصفات جميع السلالات الطبيعية الأخرى منها والتى تنتمى لنفس السلالة .

الهندسة الوراثية للنباتات باستخدام الأجروباكتيريم

(*A. tumefaciens*) :

استخدمت الأجروباكتيريم *A. tumefaciens* على نطاق واسع فـــى هندســـة النباتات وراثياً ويتم ذلك من خلال وضع الجينات المرغوبة فى منطقـــة T-DNA للبلازميد البكتيرى تحت الظروف المعملية ، وحينئذ يحدث التحام لهذا المقطع مـــن T-DNA داخل الكروموسومات النباتية عندما ينتقل إليها T-DNA، وتوجد بعـــض من تطبيقات هذه التكنولوجيا على نطاق تجارى يوضحها الجدول رقم ٧ .

جدول رقم ٧ : يوضح النباتات المحولة وراثياً والتى انتشرت على نطاق تجـارى (Brich, 1997) :

المحصول وتاريخ انتشاره	الإسم التجارى	الشركة المنتجة	المدخلات الجديدة
الطماطم (١٩٩٤)	Flavr Savr	Colgene	سرعة النضج والنكهة الجيدة والنمو الجيد .
الطماطم (١٩٩٦)		Zeneca	عجينة صلصة مناسبة .
القطن البطاطس الذرة (١٩٩٦-١٩٩٧)	Bollgard New leaf Yield guard	Monsanto	المقاومة للحشرات باستخدام جين المادة البروتينية السامة من *Bt* .
فول الصويا الكانولا القطن (١٩٩٥-١٩٩٦)	Roundup Ready	Monsanto	المقاومـة لمبيـدات الحشـائش المحتوية على Glyphosate .

وهنا يجب أن يُلاحظ أنه لا يحدث فى نباتات الطماطم المعدلة وراثيًا تعبيـر لجين Polygalacturonase . هذا الإنزيم الذى يقوم بتكسير البكتين Pectin مما كان يؤدى إلى طراوة أو ليونة أنسجة الثمار فى النباتات غير المعدلة وراثيا ، بينما فى نباتات الطماطم المعدلة وراثيا يمكن أن تترك ثمار الطماطم على النبات لمدة طويلة حتى يتراكم بها المكونات الطيارة Flavour components وهذه تجعل الثمـار ذو طعم أفضل ومناسب .

فالعديد من النباتات قد تم هندستها وراثيّاً كـى يحـدث بهـا تعبيـر لجـين Insecticidal toxin gene من الباسيلس *Bt* ، ولذا فإن الحشـرات تمـوت عنـدما

تحاول أن تتغذى على هذه النباتات المهندسة وراثياً بجين Bt • وهذه طريقة ناجحة جداً ولكن عيبها أنها تجعل الحشرات معرضة بصفة مستمرة للمادة البروتينية السامة والتى يترتب عليها تكوين صفة المقاومة ضدها • وبالإضافة لذلك فإن العديد من المحاصيل قد تم هندستها وراثياً لتصبح مقاومة لمبيد الحشائش Glyphosate والذى يستخدم فى مكافحة الأعشاب الضارة دون الإضرار بالمحصول • ومن أحسن أمثلة هذه النباتات هى محاصيل Roundup ready التى تنتجها شركة مونسانتو .

وتتضمن إستراتيجيات إنتاج نباتات معدلة وراثياً ما يلى :

- هندسة صفة المقاومة للفيروس فى النبات بواسطة إدخال الجينات التى تعمل على تكوين الغلاف البروتينى للفيروس أو تلك التى تعمل Antisense RNA •
- هندسة صفة المقاومة للفطريات الممرضة للنبات ، بتعزيز تعبير الإنزيمات المحللة لجدر الفطريات مثل كل من Chitinase and glucanases •
- هندسة النباتات أثناء المراحل المتأخرة من تكوين البذور بحيث يحدث فيها تعبير للجينات التى تجعل البذور عقيمة بحيث لا يمكن استخدامها فى العام التالى ويضطر المزارع إلى تجديدها سنوياً من المنتج التجارى للبذور •

ومع ذلك فإن الجزء المهم فقط فى منطقة T-DNA هو منطقة صغيرة جداً تتكون من ٢٥ زوجاً من القواعد هى عبارة عن Border repeats • وهى ضرورة لعمل تحول وراثى للنباتات • ولذلك فإن الهندسة الوراثية لمنطقة T-DNA تتم لإزالة الجينات المسئولة عن تكوين الهرمونات النباتية ، وعلى مستوى هذه المنطقة يتم إدخال الجينات الانتخابية مثل جينات المقاومة للمضادات الحيوية كالـ Kanamycin ولذلك فإنه يجب أن يحتوى هذا الجزء على منطقة القطع وهى المنطقة التى يوجد بها تتابع النيوكليتدات الخاص بالقطع والذى فيه يعمل إنزيم القطع على قطع DNA • وعلى سبيل المثال فإن إنزيم القطع Bam H1 يقوم بقطع DNA فى المنطقة التى يوجد بها تتابع النيوكليتدات GGATCC ، وعلى الخيط الآخر التتابع المكمل وهو CCTAGG وهذا يعمل على تكوين مناطق متداخلة تسمى بالنهايات اللزجة Sticky ends ولذلك فإن أى قطعة أخرى من DNA يتم قطعها بنفس الإنزيم يمكن أن تلتحم أو يتم إدخالها فى نفس المنطقة المقطوعة سابقاً بذات الإنزيم •

ولذلك فإن عملية التحول الوراثى للنباتات تستلزم ما يلى :

- خلايا أجروباكتيريم لنقل البلازميد المبرمج وراثياً بجين أو جينات معينة.
- Ti plasmid يحتوى على جينات Vir genes الفعالة وظيفيّاً للتعرف على العائل النباتى ولإستئصال T-DNA.
- إحداث قطع مناسب بمنطقة T-DNA وإدخال الجينات المرغوبة.

وعلى هذا فإن منطقة T-DNA ليست بحاجة إلى أن تبقى على نفس البلازميد مثل Vir genes ، فهى فى الغالب تركيب صغير والبلازميد الذى يحتوى عليها يتضاعف ذاتياً. وتتم عملية التحول الوراثى للخلايا النباتية بواسطة تلقيح البروتوبلاست النباتى بالـ *Agrobacterium* . وبعد ذلك يتم قتل البكتريا بواسطة المضادات الحيوية ، ومن ثم يعمل البروتوبلاست على تكوين الجدار الخلوى وتكوين مزرعة من النسيج ، أما الخلايا غير المتحولة وراثيّاً فإنها تقتل بواسطة إضافة Kanamycin ، بينما الخلايا المتبقية هى التى تعيش حيث تحتوى على جين المقاومة للمضاد الحيوى كاناميسين ، وهى تلك التى تعمل على تكوين النبات فى مزارع الأنسجة. ومع ذلك فإنه يمكن إضافة الأجروباكتيريم لقطع الأوراق المعقمة فى البيئة السائلة ، وهنا تعمل الهرمونات على استحداث تكوين الجذور من قطع الأوراق والتى منها تتكون النباتات فيما بعد. أما الطريقة الثالثة يمكن استخدامها مع بعض النباتات مثل Arabidopsis ، ومع ذلك فإن البكتريا أو حتى DNA العارى يمكن أن يقوم بعمل تحول وراثى من خلال الاندماج مع غلاف البذرة .

الخلاصة :

هي أن الأساس فى عملية استخدام الأجروباكتيريم فى برامج الهندسة الوراثية هى منطقة T-DNA الموجودة فى Ti- plasmid للـ *A. tumefaciens* والتى تنفصل عن البلازميد وتلتحم بجينوم الخلية النباتية عندما يحدث لها إصابة بالأجروباكتيريم ، ولذلك فإن أى جزىء DNA غريب يتم التحامه بمنطقة T-DNA سوف يحدث له إلتحام بجينوم الخلية النباتية إذا ما أصيبت بالأجروباكتيريم. وبنهاية هذا الفصل نكون قد أدركنا ما هي الأجروباكتيريم وطبيعة محتواها البلازميدي وعلاقته بمقدرتها المرضية وكيف تسبب هذه البكتيريا مرض التورم

التاجي فى النباتات ذوات الفلقتين وأعراض هذا المرض ، وكيف يمكن استخدامها فى نقل الجينات للنباتات ، والصفات التى نقلت للنباتات باستخدام الأجروباكتيريم ، ودور الوراثة فى تطور طرق المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم .

الأسئلة :

١- لماذا تستخدم الأجروباكتيريم فى نقل الجينات للنباتات ذوات الفلقتين ؟

٢- بالرغم من أن الأجروباكتيريم والرايزوبيم كائنات تتبع نفس العائلة ، إلا أنهما يختلفان عن بعضهما من الناحية الوراثية ، حيث يعتمد التصنيف البيولوجي لهذه البكتيريا أساسا على البلازميدات وليس على الكروموسوم البكتيري ، علل ذلك ؟

٣- ماذا يحدث للأجروباكتيريم والرايزوبيم لو تعرضا لدرجة حرارة مرتفعة عند ٣٠ درجة مئوية أو أعلى ؟

٤- إلى ماذا تشفر الجينات الموجودة فى منطقة T-DNA ؟

٥- ما أفضل السلالات البكتيرية التى تستخدم فى المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم؟

٦- ما المشاكل التى تواجه استمرار النجاح فى برنامج المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم ؟

٧- كيف يمكن استخدام طرق الهندسة الوراثية فى تجنب المشاكل التى تواجه المكافحة الحيوية للأجروباكتيريم ؟

٨- كيف أدت الهندسة الوراثية إلى التغلب على طراوة الثمار فى الطماطم ؟

٩- ما هي الضمنيات الموجودة فى إستراتيجيات إنتاج نباتات معدلة وراثيا ؟

١٠- ما هي مستلزمات عملية التحول الوراثي للنبات ؟

أجب بنعم أم لا مع التعليل :

١- ينشأ مرض التدرن التاجي فى النباتات ذوات الفلقة الواحدة بسبب أن الأجروبكتيريم تقوم بنقل جزء من محتواها من DNA إلى النباتات والذى يندمج مع جينوم الخلايا النباتية مسببا نشأة التورمات ؟

٢- يمكن أن تستخدم الأجروبكتيريم فى نقل الجينات غير النباتية لهندسة المحاصيل الحقلية وراثيا ؟

٣- معظم الجينات الموجودة فى منطقة التدرن التاجي كانت محمولة على كروموسوم الأجروبكتيريم وليس على Ti-plasmid .

٤- يتركز الفرق الوراثي بين الأجروبكتيريم والرايزوبيم فى احتواء الأجروبكتيريم على Ti-plasmid واحتواء الرايزوبيم على Symbiotic plasmid ؟

٥- يمكن للخلايا البكتيرية أن تنمو فى الأوساط البيئية العادية حتى إذا فقدت بلازميداتها وذلك لأن البلازميدات تعبر عن وظائف إضافية بالخلايا البكتيرية ؟

٦- اندماج منطقة T-DNA من خلايا الأجروبكتيريم بكروموسومات الخلية النباتية يسيطر على وظائف تلك الخلايا النباتية ؟

٧- البكتيريا المرضية من الأجروبكتيريم هى التى تحتوى على Ti - plasmid وهى تمثل نسبة بسيطة من هذا الجنس ؟

٨- لا يمكن للـ Ti – plasmid أن ينتقل بالتزاوج إلى سلالات أخرى من الأجروبكتيريم تقطن منطقة الريزوسفير لأنه Conjugative plasmid ؟

٩- يعتبر Allan Kerr هو أول من اكتشف *Agrobacterium radiobacter k84* فى أستراليا عام ١٩٧٣ والتى تعتبر أول سلالة استخدمت فى المكافحة البيولوجية على النطاق التجاري ؟

١٠- عملية انتقال Agrocin plasmid من *Agrobacterium radiobacter k84* إلى سلالات أخرى ممرضة يترتب عليه أن تصبح السلالات الممرضة مقاومة للـ Agrocin - 84 مما سيجعل هذه السلالات فى الغالب مقاومة لتأثير مثل هذه المثبطات ؟

١١-Agrocin plasmid هو بلازميد لا ينتقل خلال عملية التزاوج ولكن يوجد بنفس السلالات بلازميد آخر يقوم بتحريكه مؤديا إلى انتقال المادة الوراثية بين السلالات ؟

١٢- اختر الإجابة الصحيحة من بين الإجابات التالية :

يمكن تجنب المشاكل التى تؤثر على برنامج المكافحة الحيوية للأجروبكتيريم عن طريق :

أ- استئصال منطقة Tra region بإنتاج طفرات من السلالة K84 تسمى Transfer deleted ؟

ب- الهندسة الوراثية للسلالات المستخدمة فى برنامج المكافحة الحيوية ؟

ج- زيادة عدد نسخ Agrocin plasmid فى خلايا *Agrobacterium radiobacter* k84 ؟

د- استئصال البلازميد pNOC التزاوجي من هذه السلالات والذي يستطيع تحريك Agrocin plasmid خلال عملية التزاوج ؟

هـ- جميع الإجابات السابقة صحيحة عدا (ج) ؟

الباب الرابع
الفصل الأول
إنتاج نباتات مقاومة للأمراض

الأهداف : من المتوقع فى نهاية دراسة هذا الفصل أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على فهم وإستيعاب :

١. الطرق التقليدية للتربية للمقاومة للأمراض .

٢. التربية للمقاومة بإستعمال مزارع الأنسجة والهندسة الوراثية .

٣. عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية النبات .

٤. إنتاج نباتات مقاومة من مزارع المتوك .

٥. العمل علي زيادة المقاومة عن طريق إندماج البروتوبلاست .

٦. إدخال الـــ DNA فى خلايا النبات لإحداث المقاومة .

٧. إنتاج نباتات مقاومة للفيروس وأخرى مقاومة للفطريات .

المقدمة :

أُستخدمت العديد من المواد الكيماويات فى مقاومة الأمراض الفطرية ومع ذلك عجزت عن مقاومة البكتريا والفيروسات، ونظراً لما لإســتخدام الكيماويــات فــى المقاومة من أثار ضارة على البيئة أو نظراً لصعوبة مقاومة الأمراض بالكيماويات أونظرا لحدوث طفرات فى الكائنات الممرضة مما يجعل النبات المقاوم لكائن غير مقام وبالتالى يصبح إنتاج نباتات مقاومة للأمراض بالأساليب الحديثة أمراً لابــديل عنه . ,وبالرغم من إستخدام تكنولوجيا الهندسة الوراثية قد بدأ حــديثاً إلا أن هــذا الأسلوب أصبح هاماً فى مقاومة الأمراض .

أولا : الطرق الكلاسيكية الرئيسية المستعملة فى التربية لإنتاج نباتات مقاومة للمرض :

الإنتخلب الإجمالى : وهو إنتخاب مقدار كبير من البذور من النباتات الأكثر مقاومة والتى ظلت حية فى الحقل حيث الإصابة الطبيعية تحدث بإنتظام . إنها طريقة بسيطة ولكن تحسين النبات يكون بطيئا وكذلك فإنه فى النباتات خلطية التلقيح لا يكون هناك أى تحكم بمصدر اللقاح .

الإنتخاب الفردى : وفيها تؤخذ أفراد النباتات عالية المقاومة وأجيالها ويجرى لها إكثار بصورة منفردة ويعاد حقنها لإختيار المقاومة. هذه الطريقة سهلة وأكثر فاعلية مع المحاصيل ذاتية التلقيح ولكنها صعبة تماما مع الأفراد خلطية التلقيح .

التهجين الرجعى : وفى هذه الطريقة يهجن صنف من محصول ذو صفات مرغوبة ولكنه قابل للإصابة مع صنف آخر مزروع ويحمل المقاومة لكائن ممرض معين. وبعد ذلك تختبر الأجيال للمقاومة. بعدئذ تؤخذ الأفراد المقاومة وتهجن تهجينا رجعيا مع الصنف المرغوب. وتكرر هذه العملية عدة مرات حتى تثبت المقاومة فى الأساس الوراثى للصنف المرغوب. هذه الطريقة تستغرق وقت وتختلف فاعليتها كثيرا حسب كل حالة خاصة، يمكن أن تطبق أيضا (حيث تكون أكثر سهولة إلى حد ما) فى حالة محاصيل التلقيح الخلطى أكثر منه فى محاصيل التلقيح الذاتى .

استعمال الطفرات : إن إستعمال الطفرات الطبيعية أو الصناعية بواسطة أشعة X أو الأشعة فوق البنفسجية التى تبين زيادة المقاومة وكذلك تغير عدد الكروموسومات فى النبات وإنتاج متضاعفات المجموعة الكروموسومات (4n ، n6) أو ثنائى مجموعة الكروموسومات لكن تنقص أو تزيد واحدا أو أثنين من الكروموسومات عن طريق استعمال الكيماويات مثل الكولشيسين أو الإشعاع فيمكن إستعمال النباتات المقاومة الناتجة من إستعمال المطفرات .

ثانيا - التربية للمقاومة باستعمال طرق مزارع الأنسجة و الهندسة الوراثية :

تشمل طرق مزارع الأنسجة على مزارع الكالوس، مزارع الخلايا المفردة، إكثار القمم المرستيمية، إنتاج نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية، عزل

وزراعة ونقل ودمج البروتوبلاستات وإعادة إكاثرها إلى أن تصل إلى نباتات كامله كل هذه الطرق المتنوعة تعمل على الإختلافات فى العديد من الصفات التى تتضمن صفات المقاومة للأمراض النباتية . أما ما يتعلق بتكنولوجيا (الهندسة الوراثية) فإن طرق الهندسة الوراثية تسمح بإكتشاف وعزل وتحوير ونقل وإظهار القدرة الوراثية للجينات المفردة أو مجموعة من الجينات المتقاربة من كائن حى إلى أخر حيث يمكن نقل الجينات الخاصة بالمقاومة من كائن إلى أخر .

١- مزارع الأنسجة النباتية المقاومة للمرض :

إن مزارع الانسجة للنباتات المقاومة للمرض تكون مفيدة بشكل خاص فى حالة النباتات التى تتكاثر لاجنسى حيث يتم إنتاج أصول خالية من الكائن الممرض فى النباتات التى تتكاثر خضريا (وسائل تكاثر لاجنسى) والقابلة للإصابة .

فإنتاج نباتات خالية من مسببات الأمراض خاصة الفيروسية منها :-

Production of pathogens [mainly virus] - free plants

من المعروف أن بعض النباتات التى يتم إكثارها خضرياً تكون عرضة للإصابة بالأمراض الفيروسية والتي تنتقل من خلال وسائل الإكثار ومن أهم الأمثلة:- البطاطس، الثوم، الفراولة، التفاح، الموز، القصب، وغيرهما . لذلك فمن خلال مزارع الأنسجة يتمم زراعة جزء صغير جداً ٠,٢ - ٠,٥ ملليمتر . هذا الجزء غالباً خالي من الفيروس حتى في النباتات المصابة بالفيروس لعدم احتوائه علي أوعية vesseless وبطئ حركة الفيروس في المنطقة النشطة . النباتات الناتجة من هذا الجزء هي نباتات خالية من مسببات الأمراض وبذلك يمكن توفير ملايين الدولارات التي تستخدم في إستيراد شتلات من مناطق باردة حيث لا ينمو الفيروس.

٢- عزل الطفرات المقاومة للمرض من مزارع خلية نبات :

إن النباتات التي يعاد تخليقها من مزرعة (كالوس، خلايا مفردة أو بروتوبلاست) كثيراً ما تُظهر تنوعات كبيرة (تنوع جسمى وليس جنسى) معظمها لا فائدة منها أو ضارة، ومع ذلك فإن النباتات ذات الصفات المفيدة يمكن أن تظهر أيضا، فمثلا عندما أعيد تخليق النباتات من بروتوبلاست ورقة بطاطس صنف قابل للإصابه بالفطرين *Phytophthora infestans* والفطر

Alternaria solani، بعضاً من هذه النباتات كانت مقاومة للفطر *Alternaria solani* وكانت مجموعة أخرى مقاومه للفطر *Phytophthora infestans* وبالمثل فى النباتات التى حصل عليها من مزارع نسيج قصب السكر أظهرت زيادة فى المقاومة للمرض المتسبب عن كل فطر *Helminthosporium* والفطر *Ustilago* .

٣- إنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية مقاومة من نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية :

إن زراعة حبوب اللقاح على بيئة غذائية تنمو إلى نباتات أحادية المجموعة الكروموسومية حيث يكون كل جين موجود بحالة فردية و بتقنية مناسبة للمقاومة للمرض، يمكن أن تختار معظم النباتات الأحادية المجموعة الكروموسوميه وذات المقاومة العالية للمرض. هذه النباتات يمكن فيما بعد أن تعامل بالكولشيسين والذى يؤدى إلى تضاعف الأنوية حيث يعمل على منع تكوين خيوط المغزل وهذا يعنى مضاعفة عدد الكروموسومات وإنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسوميه متماثلة الزيجوت لجميع الجينات بما فيها جينات المقاومة .

٤- نقل جينات المقاومة إلى العوائل الغير متوافقة جنسيا باندماج البروتوبلاست :

عند خلط البروتوبلاست المتحصل عليه المأخوذ من أنواع نباتية بينها أو ليست بينها صلة قرابة فإن البروتوبلاستات تندمج مع بروتوبلاستات أخرى من نفس النوع أو أنواع أخرى، هذا ما يسمى التهجين الجسمى Somatic hybridization فإن هذه الهجن تظهر إختلافا واسعاً نتيجة لإتحادات النواة والـ DNA السيتوبلازمى (خصوصا DNA الميتوكوندريا) أما DNA البلاستيدات الخضراء فإنه يبقى نوعا واحداً فقط.إجراء الدمج للبروتوبلاست ضمن نفس الجنس أو بين أجناس متقاربة يؤدى إلى تكوين هجن تكون أكثر قابلية للحياة بعكس إذا حدث الدمج بين أنواع بعيدة القرابة، فإن هذه الهجن الجسمية لاتنمو أوتكون عقيمة وتكون هذه الهجن ذات أهمية كبرى فى أمراض النبات إذا إحتوت هذه الهجن على المجموعة الكروموسومية لأحد الآباء بالإضافة إلى أجزاء من المجموعة الكروموسومية التى قد تحتوى على جينات المقاومة من الأب الآخر ضد أحد الكائنات الممرضة. إن دمج البروتوبلاست يكون نافعا بشكل خاص بين بروتوبلاستات من طرز نباتية مختلفة عالية المقاومة للمرض من نفس الصنف أو النوع. إن الدمج البروتوبلاستى

لمثل هذه الطرز يؤدى إلى إنتاج نباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية والتى تضم جينات المقاومة من كلا الطرازين عالية المقاومة وبالتالى يمكن الإنتخاب لهذه النباتات المقاومة .

٥- التحول الوراثى فى خلايا النبات لمقاومة المرض :

يمكن إدخال المادة الوراثية الـ DNA فى خلايا النبات أو البروتوبلاست بعدة طرق . من هذه الطرق :

١. امتصاص الـ DNA مباشرة .

٢. الحقن الدقيق با لـ DNA. .

٣. إدخال الـDNA مغلفاً باللايبوسوم (وهى حويصلة دهنية تتكون من خلط الفوسفوليبيدات بالماء يمكنها إحتواء الـDNA وإدخاله إلى الخلايا) .

٤. إدخال الـ DNA بواسطة قاذف الجينات Gene Gun .

٥. إستعمال بعض الفيروسات كعوامل نقل للنبات .

٦. إستخدام بكتريا الـ*Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجى كوسيلة لنقل الـDNA للنبات عن طريق بلازميد Ti plasmed المحمل بالـ DNA المرغوب نقله كوسيلة للتحول الوراثى إستخدمت فى كثير من النباتات وتعتبر من أفضل طرق التحول الوراثى حتى الأن .

كل هذه الطرق تدخل فى خلايا أو بروتوبلاست النبات قطعا صغيرة أو كبيرة من الـ DNA يمكن أو لا يمكن لها أن تندمج فى الـ DNA الكروموسومى للنبات أو أنه يندمج مع جينات أخرى منتظمة على طول كروموسومات النبات. عندئذ فإن الـ DNA يظهر تعبيرة الجينى يعنى أنه ينسخ إلى mRNA الرسول وهذا عندئذ يترجم إلى بروتين .

يعتبر نظام *Agrobacterium* من أنجح النظم التى أستعملت بنجاح لإدخال جينات جديدة متخصصة إلى النباتات تظهر تأثيرها بواسطة النبات. حيث قاموا بعزل جينات خاصة ببروتينات تعمل على المقاومة الحيوية لمدى كبير من الآفات الحشرية وأستخدموا بكتريا *A. tumefaciens* فى إيلاج هذه الجينات فى كل من

الطماطم والبطاطس والقطن .حيث وصلت هذه الجينات المنطقة الملائمة من البلازميد المحدث للورم Ti-plasmid للبكتريا *Agrobacterium* بعد ذلك يُسمح للبكتريا أن تصيب هذه النباتات . بعد الإصابه بالبلازميد المحتوى على الجين الجديد ينقل إلى خلية النبات ويلتحم مع جينات النبات الجديد (مجموعة العوامل الوراثية). حيث يتضاعف الجين الجديد خلال إنقسام خلية النبات ويظهر أثره مع جينات النبات الأخرى .

نتيجة لإستخدام الطرق الحديثة مثل زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية (التكنولوجيا الحيوية) فىمقاومة الأمراض النباتية تحسنت كمية ونوعية المحصول تحسناً كبيراً عما كانت عليه فى الماضى. ومع ذلك فإن المحاصيل المحسنة مازالت مهددة بالعديد من الأمراض بل أنها أصبحت مرتعاً خصباً للعديد منها مقارنة بالنباتات البرية لإستمرار الإنتخاب لصفات معينة (مثل كمية ونوعية المحصول) بدرجة أكبر من الإنتخاب لمقاومة هذه الأمراض .

ومع ظهور تقنيات الهندسة الوراثية وإمكانية نقل الجينات من كائن لآخر وتطور علم الفيرولوجي وإستخدامه فى دراسة جينوم الفيروسات، فقد أدى ذلك الى ظهور إستراتيجيات مختلفة لإنتاج نباتات مقاومة للفيروس والتي منها نقل جين الغلاف البروتينى Coat protein (cp) gene الخاص بالفيروس إلى النبات .وسوف نستعرض بعض الأبحاث ليتعرف عليها القارىء .

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية :

أولاً : كلونة الجينات المسئولة عن إنتاج بروتينات أغلفة الفيروسات (virus coat protein genes) والمعزولة من هذه الفيروسات .

١- البطاطس المقاوم للفيروس :

تم تعديل عدة أصناف من البطاطس لمقاومة فيروس إلتفاف أوراق البطاطس PLRV وفيروس PVY وذلك بإستخدام التكنولوجيا الحيوية، حيث تؤدى زراعة تلك الأصناف المقاومة للفيروسات إلى تقليل إستخدام مبيدات الحشرات والتى نحتاج إلى إستخدامها لمكافحة الحشرات التى تنقل الفيروسات . هذا الصنف متوفر ومصرح به كغذاء فى كل من أستراليا وكندا والولايات المتحدة الامريكية .

وغالبًا مايستخدم مع جين بروتين غلاف الفيـروس محفـز قـوى (strong promoter) ويتم النقل الجينى عن طريق الأجروبكتريم .

حيث نقلت قطعة الـDNA التى تحتوى على التتابع الجينى المشفر لبـروتين غلاف فيروس إكسpotato virus X-PVX إلى الأصناف التجارية عـن طريـق الأجروبكتريم. وأجرى إختبار للنباتات المحولة الناتجة لدراسة تعبير هـذا الجـين للمقاومة، فأظهرت النباتات المحولة قدراً كبيراً من المقاومة فـى معمـل زراعـة الأنسجة، وعند إكثارها ثم أختبارها لمقاومة الفيروس فـأظهرت نفـس درجـة المقاومة التى أظهرتها أثناء الإختبارات فى معمل زراعة الأنسجة. وأُجرى إختبار المقاومة للفيروس على نباتات ناتجة من عيون درنات نباتـات بطـاطس محولـة وأظهرت هذه النباتات أيضاً مقاومة للفيروس .

وأظهر تحليل الدرنات والأوراق من النباتات الخالية من الفيروسات (virus free plants) تعبيراً ثابتاً (stable expression) للجينات المشفرة لبروتين غلاف الفيروس طوال موسم النمو. وبمقارنة النباتات المحولة بنباتات المقارنة وجـد أن فيـروس إلتفاف أوراق البطاطس (potato leaf roll virus-PLRV) يتراكم بدرجة أقـل فـى النباتات المحولة عن نباتات المقارنة أمكن بعد ذلك نقل جينات بـروتين الغـلاف للعديد من أنواع الفيروسات إلى نباتات مختلفة ولقد أظهـرت النباتـات المحولـة مقاومة للفيروسات التى تم إليها نقل جين الغلاف البروتينى .

٢- الباباز المقاوم للفيروس :

يحتوى باباز هاواى المطور على جين الغلاف البروتينى لفيروس PRSV ، لذا يعطى هذا البروتين حماية داخلية لنبات الباباز ضد هذا الفيروس، ويعمـل هـذا الصنف المحور من الباباز بشكل مشابه لصنف البطاطس المقاوم للفيروس . متوفر ومصرح به كغذاء فى الولايات المتحدة الامريكية .

٣- إنتاج قرعيات مقاومة للفيروسات :

تم إنتاج كوسة "صنف إسكندرانى" معدلة وراثيا لمقاومة فيـروس التبـرقش الزوكينى الأصفر (ZYMV) كما تم التوصل إلى أفضل الطرق لإجراء التعـديل الوراثى لكل من الشمام والخيار والبطيخ، ويتم حالياً تقييم تلك النباتـات المعدلـة وراثيا لمقاومة فيروس (ZYMV) .

- طريقة إنتاج نباتات كوسة مقاومة للفيروسات :

يعتبر فيروس التبرقش الأصفر الزوكينى (ZYMV) من أخطر الفيروسات التي تصيب نباتات العائلة القرعية وخاصة نبات الكوسة حيث يؤثر على إنتاجية هذه المحاصيل بنسبة تتراوح ما بين ٤٠-٨٠% مما يهدد المساحة المنزرعة بأصناف الكوسة والتى تقدر بمائة الف فدان وفقا للإحصائيات، ولهذا الفيروس عدة سلالات أكثرها خطورة هى السلالة المصرية. ومن المعروف أن مقاومة هذا الفيروس الخطير بالطرق التقليدية قد ثبت عدم فاعليتها فى الحد من خطورته وإنتشاره .

وقد إستطاع الفريق البحثى فى "معمل نقل الجينات GTL " بمعهد بحوث الهندسة الوراثية الزراعية AGERI ، التابع لمركز البحوث الزراعية، إنتاج نباتات كوسة مقاومة لفيروس ZYMV وذلك بإستخدام إستراتيجية جين الغلاف البروتينى cp gene .



تم عزل جينوم الفيروس الخاص بالسلالة المصرية (ZYMV-Eg isolate) وكلونة الجين المسئول عن إنتاج الغلاف البروتينى لإدخاله فى نباتات الكوسة . تلى ذلك نقل هذا الجين إلى نباتات الكوسة لإنتاج نباتات معدلة وراثيا Transgenic plants ثم التأكد من وجود وتعبير الجين داخل النباتات الناتجة وذلك بإجراء إختبارات معملية متخصصة مثل PCR كإختبار جزيئى، و ELISA كإختبار سيرولوجى. بعد ذلك تم تقييم مدى مقاومة تلك النباتات لفيروس (ZYMV) تحت ظروف الصوب البلاستيكية وذلك بإحداث عدوى ميكانيكية بإستخدام العصير المستخلص من نباتات مصابة بالسلالة المصرية من الفيروس، مع إنتخاب أفضل النباتات من حيث درجة المقاومة للفيروس وصفات جودة الثمار. وقد تم إختيار النباتات الأكثر تحملا للإصابة الفيروسية لتقييمها تحت ظروف الحقل المفتوح لمدة جيلين متتاليين، وشمل التقييم مدى قدرة النباتات على مقاومة فيروس (ZYMV)

حيث تأخر ظهور الأعراض المميزة للفيروس بعد فترة تراوحت بين ١٠ إلى ١٣ أسبوع من الزراعة، وكانت أعلى نسبة إصابة بالفيروس ٤ -٨% في النباتات المعدلة وراثيا ، بينما كانت ٦٠-٨٠% في النباتات غير معدلة وراثيا، كما تم تقييم الخواص البستانية للنباتات من حيث جودة الثمار ومدى ملائمتها لعملية التسويق وجدير بالذكر أن تلك التجارب المعملية والحقلية لإنتاج نباتات كوسة معدلة وراثيا مقاومة لفيروس التبرقش الاصفر الزوكينى قد بدأت منذ عام ١٩٩٤ وهى لازالت مستمرة حتى الآن ، وهى مدة كافية للتأكد من ثبات صفة مقاومة تلك النباتات للفيروس. وحاليا يتم إجراء إختبارات أخرى على تلك النباتات تتعلق بسلامة الغذاء وتأثيره على البيئة وذلك فى معامل متخصصة، يلى ذلك عرض نتائج تلك الإختبارات على لجنة الأمان الحيوى لتقرر مدى صلاحية أصناف الكوسة المعدلة وراثيا للتداول والتسويق .

٤- إنتاج طماطم مقاومة للفيروسات :

يجرى العمل على إنتاج نباتات طماطم مقاومة للفيروسات خاصة " فيروسات الجيمينى " Gemini viruses ، والتى تنتقل عن طريق الذبابة البيضاء، وقد تم نقل جين يسبب موت الخلايا النباتية التى يحدث بها العدوى فقط ويمنع أو يحد من إنتشار الفيروس إلى باقى خلايا النبات. وقد أظهرت نباتات الطماطم المعدلة وراثيا بهذه الطريقة مقاومة للفيروس تحت ظروف العدوى الصناعية داخل الصوب .

٥- إنتاج نباتات موز معدلة وراثيا :

إنتاج نباتات موز معدلة وراثيا تحتوى على جين الغلاف البروتينى لكل من الفيروسات التالية :

- فيروس الـــBBTV والذي يسبب مرض تورد القمة في الموز (BBTD) .
- فيروس الموزيك في الموز(Banana-CMV) والذى يسبب مرض الموزيك فى الموز (BMD) .

حيث تم جمع عينات من نباتات موز بها أعراض الإصابة بأمراض تورد القمة والموزيك، ثم التأكد من وجود تلك الفيروسات بإستخدام سيرم مضاد متخصص لهما بإستخدام تقنية إليزا ELISA .

تم عزل جينات الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين (BBTV & Banana-CMV) وذلك بإستخدام إحدى تقنيات البيولوجيا الجزيئية وهى PCR و RT-PCR .

تمت عملية الكلونة للجينات موضع الدراسة كل على حده فى إحدى البلازميدات وإدخالها في بكتريا القولون E. coli ، ثم عُزل الحمض النووى للبلازميدات ودُرس التتابع النيوكليوتيدى لتلك الجينات موضع الدراسة .

بعد التأكد من التعبير الجينى لتلك الجينات فى البكتريا، تم عمل كلونة بإستخدام ناقل التعبير النباتى حتى تكون الجينات قادرة على التعبير عن نفسها داخل خلايا نباتات الموز .

تم تأسيس نظام التحول الوراثى لصنف الموز وليامز بإستخدام تقنية القذف الجينى فى وجود جينات معلمة سمية بالعوامل المخبِرة Reportergenes ومنها جينات الـ gus و bar التى تعطى تعبيراً مميزاً يدلل على نجاح عملية التحول الوراثى .

تم إدخال جينات الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين بصورة منفصلة فى صنف الموز وليامز وإستكمال خطوات إعادة التمايز للحصول على نباتات كاملة ثم أقلمتها تحت ظروف الصوب .

تم الكشف عن وجود وتعبير الجينات موضع الدراسة باستخدام تقنيات الـ PCR و ELISA و Western blot .

بعد التأكد من نجاح التعبير الجينى لجين الغلاف البروتينى لكلا الفيروسين داخل خلايا نباتات الموز المعدلة وراثيا، يتم حالياً تقييم قدرة تلك النباتات على مقاومة الفيروسات موضع الدراسة- فى حقل منعزل Contained field trail وفى وجود نباتات غير معدلة وراثيا ومصابة بهذه الفيروسات (كمصدر للإصابة الفيروسية) بجانب عدم إستخدام أى مبيدات لمقاومة الحشرات الناقلة لتلك الفيروسات .

ثانياً : عن طريق إنتاج الـRNA التابع :

Satellite RNA

وجد أن بعض سلالات الفيروسات تنتج RNA تابعا أو ملحقاً يقلل من حدة أعراض الإصابة بالفيروسات. ويمكن إنتاج هذا الـ RNA وذلك بنقل الـ DNA المسئول عن هذا الـRNA فى النبات حيث يتم نسخ الـDNA فى النبات فينتج الـRNA فى النباتات المحولة وتصبح مقاومة لبعض الفيروسات. وكان أول إستخدام لهذا الإسلوب مع الـRNA الخاص بالسلالة $I_{17}N$ من فيروس موزايك القرنبيط وذلك لإنتاج نباتات دخان محولة ومقاومة للفيروسات. وعندما أظهرت نباتات الدخان المحولة التعبير الجينى لإنتاج هذا الـRNA وأمكنها إنتاج كمية كبيرة منه قلت كثيراً أعراض الإصابة بمرض الموزايك، ومن ناحية أخرى لايوجد أى تأثير الـRNA الملحق لفيروس الطماطم الأسبرمى (tomato aspermy virus-TAV) على حدة الإصابة به أو الإصابة بأنواع أخرى من الفيروسات. ففيها أظهر تعبير هذا الـRNA لفيروس موزايك القرنبيط فعالية فى إختبارات الحقل والصوبة الزجاجية فى نباتات الفلفل والدخان والطماطم. كذلك تميزت نباتات الطماطم التى أظهرت تعبير جينات الـRNA الملحق بمقاومة للأمراض الفيروسية .

ثالثاً : إنتاج جزيئات الـRNA المعوقة :

RNA defective

تعتمد هذه التقنية على إنتاج جزيئات الـRNA المعوقة (RNA defective) وهى عبارة عن أشكال من المادة الوراثية لبعض أنواع الفيروسات يمكنها أن تسبب إضطراباً فى عملية تضاعف الفيروسات. وأياً كان مصدر الجين المنتج للـRNA المعوقة (طبيعياً أوصناعياً) فإنه يكون فعالاً فى الدفع لمقاومة الفيروسات بواسطة النباتات المحولة بها .

ولقد أمكن إنتاج الـRNA المعوقة لثلاثة فيروسات تشمل كل من فيروس شجيرة الطماطم المتقزمة (tomato bushy stunt virus-TBSV) وفيروس البقع المستديرة فى السيمبديم (cymbidium ring spot virus-CyRSV) وفيروس تجعد اللفت (turnip crinkle virus-TCV) بعد إجراء التحوير الوراثى فربما تتغير الصفات الأخرى للأصناف الزراعية بسبب التباينات الجسمية التى تحدث خلال

مرحلة زراعة الأنسجة أو تأثير الجينات المنقولة على تعبيرات الجينات الأخرى (endogenous gene expression). لذلك يجب إجراء إختبارات على النباتات المحولة من حيث خصائصها المورفولوجية والمحصولية. ومن المهم جداً المحافظة على الخصائص الإقتصادية الأخرى للنباتات المحولة خلال نقل الجينات. كذلك تميزت نباتات الطماطم التى أظهرت تعبير جينات الـRNA الملحق بمقاومتها للأمراض الفيروسية .

إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفطرية :

تعتمد الحماية الطبيعية للنباتات ضد العدوى أو الإصابة بالكائنات الدقيقة المسببة للأمراض على أساليب متعددة يرتكز معظمها على تنشيط جينات معينة للدفاع ضد هذه الإصابة. وينتج عن تنشيط مثل هذه الجينات تغيرات طبيعية فى النبات العائل تسمح بأن يكون أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى .

من بين هذه التغيرات ما يؤثر على خصائص الجدار الخلوى (cell wall) مثل تراكم الجلايكوبروتين الغنى فى الهيدروكسى برولين (hydroxyproline–rich glycoproteins) . وتراكم اللجنين والسوبرين (lignification and suberization) فى الجدار الخلوى وتكون الكلّس وتجمع المركبات الفينولية حيث وجد أن لكل ذلك دور فى صفة المقاومة .

دور الفينولات فى المقاومة :

- تتحد الفينولات مع البروتينات وتكون التانينات وهى سامة للمسببات المرضية
- حرمان الفطر من البروتينات .
- فصل الأكسدة عن الفسفرة وبالتالى حرمان الفطر من الطاقة .
- تثبيط الأنزيمات المفرزة من الفطر .
- عند أكسدة المواد الفينولية تتحول إلى كيتونات وهى سامة للفطر.
- تدخل فى تكوين اللجنين.

دور اللجنين فى المقاومة :

- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد إختراق الخلايا.
- يعطى مقاومة ميكانيكية ضد أنزيمات المسبب المرضى والتوكسينات.
- عمليات تكون اللجنين سامة للممرضات.
- عند إختراق هيفا الفطر يحدث لها لجننة.
- تكوين البروتينات المسؤولة عن المقاومة PR – Protein

تكوين الإنزيمات المسئولة عن المقاومة مثل : الشيتينيز – الجلوكانيز – البيروكسيديز .

حيث أن المكون الأساسي لجدر خلايا الفطريات تتكون من الشيتين أو الجلوكان كما يلى :

- العائلة الاسكية البازيدية الناقصة تتكون الجدر الخلوية لها من الشيتين والجلوكان .
- العائلة البيضية يتكون من الجلوكان و السيلولوز .
- العائلة الزيجية يتكون من الشيتين و الشيتوزان .

أما البيروكسيديز فهو يدخل فى تكوين لجنين جدر الخلايا النباتية :

تخليق وتراكم الفيتوأليكسينات (phytoalexins) :

من بين التغيرات البيوكيماوية التى تجعل النبات أكثر مقاومة للهجوم الميكروبى تخليق وتراكم الفيتوأليكسينات (phytoalexins) وذلك للأسباب التالية :

- هى مواد سامة تتكون من النبات نتيجة الإصابة .
- توجد فى النبات المصاب ولا توجد فى النبات السليم .
- يختلف النبات المقاوم عن القابل للإصابة فى سرعة التكوين وكمية المادة المتكونة منها .

دور PR-Proteins في المقاومة :

يستطيع النبات طبيعياً أن يزيد من تركيز بروتينات معينة مثل (pathogenic – related proteins) (PR – proteins) وذلك إستجابةً لهجوم المسبب المرضى والتى يظهر بعضها فعلاً مضاداً للعديد من الفطريات (antifungal activity) ومع أن الدور المحدد لهذه البروتينات فى الإستجابة الدفاعية للنبات ليس معروفاً فإن وجودها يرتبط بمقاومة الأمراض الفطرية. ويعتمد أسلوب إنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات على تعبير جينات تشفر لبروتين مضاد للفطريات ويجب ألا يؤثر ناتج هذه الجينات عكسياً على النبات. فمثلاً تدخل عملية تخليق الفينايل بروبانويد (phenylpropanoid) فى عمليات التمثيل فى النبات وعند إعاقة مسار تخليقه قد تكون النتيجة عكسية على نمو النبات مما قد يؤدى فى النهاية إلى موته. وبالإضافة للكايتينيز والجلوكانيز توجد سلسلة إنزيمية لها فعل هدمى فى مسار الفينايل بروبانويد (phenylpropanoid pathway) والتى يظهر زيادة فى نشاطها خلال الإستجابة الدفاعية للفطريات .

ولقد تم إثبات خاصية تضاد الفطريات (antifungal property) للكايتينيز النباتى فى الكثير من التجارب. فمثلاً وجد أن الكايتينيز المعزول من نبات الفول يثبط نمو فطر السايروفيت (saprophyte) تريكوديرما فيريد (Trichoderma viride) . ولقد أمكن عزل ووصف الجين المشفر لإنزيم الكايتينيز. كما تم عزل الجينات المشفرة والإنزيمات المحللة المضادة للفطريات (antifungal hydrolyses) من نبات الدخان ونقلها إلى نبات الطماطم ليظهر فيها نفس التعبير للجينات المشفرة لإنزيمات الكايتينيز والجلوكانيز (chitinases and β – 1,3-glucanases). وأظهرت هذه النباتات مقاومة للمرض الذى يسببه الفطر فيوزاريم أوكسيسبورام (Fusarium oxysporum) ذو الأهمية الإقتصادية.وسوف نستعرض بعض النباتات المقاومة للفطريات .

إنتاج أصناف أرز معدل وراثيا مقاوم لمرض اللفحة :

تعد مصر من الدول القليلة التى تنتج محصولا عاليا من الأرز، وتنتمى أغلب أصناف الأرز المصرى الى Oryza sativa، ويزرع فى مصر سنويا 1.2 مليون فدان، يعطى محصولا يقدر بحوالى 3.5 مليون طن، ويقدرإجمالى الدخل القومى من الأرز بحوالى 801.5 مليون جنيه سنويا. ويتعرض محصول الأرز فى مصر

للإصابة بمرض لفحة الأرز Rice blast الذى يسببه الفطر Pyricularia grisea محدثا إصابات شديدة تؤثر على إنتاجية المحصول، وبالرغم من إنتاج أصناف مقاومة لفطر لفحة الأرز بطرق التربية التقليدية، وإستخدام المبيدات المكافحة للفطر، إلا أن مقاومة هذا الفطر مازالت تمثل مشكلة خطيرة نظرا لقدرته العالية على التغيير .

لذلك كانت هناك حاجة ملحة لتطوير إستراتيجية جديدة لمقاومة هذا الفطر وتتمثل فى إنتاج أصناف من الأرز مهندسة وراثيا مقاومة لفطر لفحة الأرز وذلك من خلال :

١. التعرف على بروتينات دفاعية مقاومة للفطر من نباتات لها القدرة على تثبيط نمو الفطر تتبع عائلة الكايتينيز Chitinase .

٢. عزل جين بروتين الكايتينيز Chitinase gene المقاوم للفطر من أصناف الأرز الناتجة وكلونته .

٣. انتاج بروتين الكايتينيز فى البكتيريا وتنقيته لإجراء إختبارات السمية معمليا على بيئة صناعية لمعرفة قدرته على مقاومة فطر لفحة الأرز .

٤. نقل وتعبير هذا الجين فى أجزاء نباتية لأصناف الأرز المصرية لإنتاج أصناف مقاومة لمرض لفحة الأرز .

٥. إعادة التمايز للأجزاء النباتية المهندسة وراثيا الحاملة للجين والإختبار نشاط هذا الجين وقدرته على مقاومة الفطر، ومقارنة نشاطه بنشاط بروتين الكايتينيز .

٦. بعد التأكد من نشاط بروتين الكايتينيز ومقاومته للفطرفى أصناف الأرز المعدله وراثيا يتم اكثار النباتات بطرق زراعة الأنسجة .

٧. بعد نجاح التجارب والإختبارات معمليا وداخل الصوب، يستعد حاليا الباحثون لإجراء الإختبارات الحقلية .

٨. تخضع التجارب والأبحاث المتعلقة بالتكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية فى المعامل وداخل الصوب أو عند إجراء الإختبارت الحقلية إلى تطبيق "القواعد الارشادية" التى أقرتها لجنة الأمان الحيوى، وهى اللجنة المسئولة عن تقييم

المحاصيل المعدلة وراثيا ومعرفة مدى تأثيرها على كل من الانسان والحيوان والبيئة من خلال تقييمها لإختبارات معملية متخصصة يتم إجراؤها على تلك المحاصيل، كما تقوم اللجنة بالتصديق على تلك المحاصيل بعد التأكد من سلامتها وتصرح بتداولها فى الأسواق .

الخلاصة :

تستعمل الطرق التقليدية لإنتاج نباتات مقاومة مثل الإنتخاب الاجمالى والفردى والتهجين الرجعى وإستحداث الطفرات . ونظرا للتقدم الحادث في مجال التكنولوجيا الحيوية فإنها تستعمل فى محاولة لإيجاد نباتات مقاومة للكائنات الممرضة ..ففى مجال زراعة الأنسجة تم عزل نباتات مقاومة من مزارع الخلية، مزارع المتوك ومزارع البروتوبلاست كما تستخدم الهندسة الوراثية عن طريق التحول الوراثى بإدماج الـ DNA لنبات مقاوم في أخر مصاب كما تستخدم الجينات المسئولة عن بروتين أغلفة الفيروس، إنتاج ال RNA التابع ، إنتاج RNA المعوقة وإستخدام بروتينات دفاعية للفطريات لانتاج نباتات مقاومة .

الأسئلة :

١. تكلم عن الطرق التقليدية للتربية للمقاومة للأمراض ؟
٢. ما أهمية زراعة الأنسجة فى إنتاج نباتات مقاومة –أذكر بعض النباتات المقاومة ؟
٣. ما دور الهند سة الوراثية فى إنتاج نباتات مقاومة لأمراض ؟
٤. أذكر أهم الميكروبات التى تستخدم فى عملية نقل الـ DNA ؟
٥. كيف يمكنك إنتاج نباتات مقاومة للفيروس وأخر مقاوم للفطر ؟

أجب بنعم أم لا مع التعليل :

١. إنتاج نباتات مقاومة محولة وراثيا أسرع من الغير محولة وراثيا .
٢. جميع مزارع النسيج النباتي المقاومة للمرض تكون مفيدة فى جميع النباتات .

٣. يمكن إستخدام بلازميد بكتريا التدرن التاجى فى جميع النباتات .

٤. النباتات المحولة تظهر مقاومة للإصابة الفيروسية إذا إستخدم الـ DNA لبروتين الفيروس .

٥. يمكن تقليل حدة الفيروس بحدوث إضطراب فى عملية تضاعفه .

٦. لإنتاج نباتات محولة مقاومة للفطريات تعتمد على تعبير جينات تشفر لبروتين الفطريات.

الفصل الثاني

الأضرار الناشئة عن مسببات أمراض النبات ودور الوراثة في المقاومة الحيوية

الأهـــداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يتعرف على العوامل الحية وغير الحية التى تسبب فقد فى إنتاج الغذاء .

٢- يستوعب الأمراض المتسببة عن كائنات حية تؤدى إلى الفقد فى إنتاج الغذاء.

٣- يفهم كيفية استخدام تقنيات الهندسة الوراثية فى المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات الفيروسية والفطرية والبكتيرية من خلال إدخال صفات جديدة للنباتات تزيد من المقاومة الحيوية للنباتات بما يعمل على الحد من الضرر الذى يتعرض له النبات ، كما تعمل على تحسين خصائص الغذاء .

٤- يستوعب إيجابيات وسلبيات إنتاج النباتات المعدلة وراثيا .

٥- يعي المقاومة الحيوية للحشرات باستخدام نباتات *Bt* المعدلة وراثيا .

٦- توضيح دور الهندسة الوراثية فى حماية الملكية الفكرية من خلال إنهاء حياة النبات Terminator technology .

٧- يتعرف على خطورة تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة .

٨- يلم بالتأثيرات المتتابعة لإدخال صفات المقاومة الحيوية فى مجال الزراعة وإنتاج الغذاء .

٩- يوضح اعتبارات المقاومة الحيوية فى الحد من معدلات التلوث .

١٠- يستوعب ما سيترتب على إدخال صفة مقاومة العوائل النباتية للآفات من تقليل الحاجة لاستخدام المبيدات الحشرية فى مكافحة الآفات وهذا يتوافق مع بعض مكونات مكافحة الآفات فى برامج المكافحة .

مقدمة :

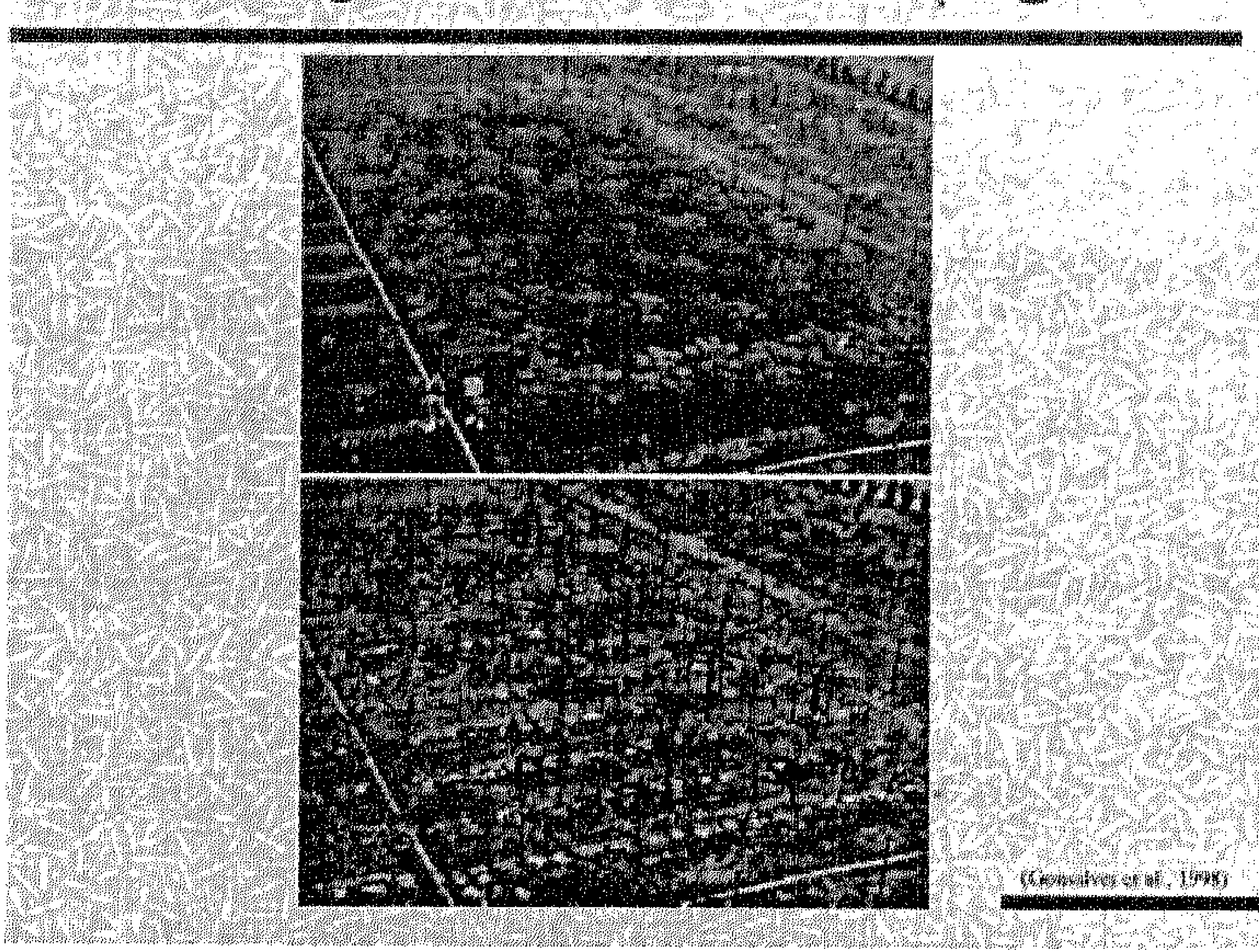
يعتبر الفقد فى إنتاج الغذاء هو أحد المشاكل التى تواجه الإنسان فى البيئة ، ويحدث هذا الفقد بسبب عوامل مختلفة ، قد تكون عوامل حية biotic stress موجودة فى البيئة مثل المسببات المرضية بأنواعها المختلفة الفطرية والفيروسية والبكتيرية ، الإصابة بالحشرات ، أو قد يكون راجعاً لعوامل غير حية abiotic stress مثل الإجهادات البيئية المتمثلة فى الملوحة والجفاف وغيرها ، وسوف يكون التركيز فى هذا الموضوع على الأمراض المتسببة عن كائنات حية تؤدى إلى الفقد فى إنتاج الغذاء بما يهدد الإنسان فى حياته مع استعمال المقاومة الحيوية لهذه المسببات المرضية من خلال استخدام تقنيات الهندسة الوراثية التى تعمل على إدخال صفات جديدة للنباتات تزيد من المقاومة الحيوية للنباتات بما يعمل على الحد من الضرر الذى يتعرض له النبات ، كما تعمل على تحسين خصائص الغذاء وبذلك تعتبر المقاومة الحيوية صديقة للبيئة وتحد من معدلات التلوث البيئى .

١- الضرر الناتج عن المسببات المرضية المختلفة Plant invasion :

أ – المقاومة الحيوية للأمراض الفيروسية :

تعتبر طبقة الكوتيكل الشمعية هى التى تحمى النبات من الإرهاب الحيوي المتمثل فى دخول وغزو معظم الكائنات الدقيقة (بكتيريا ، فطر ، فيروس) ، ولذا تعتبر الأمراض الفيروسية من الأمراض الشائعة التى تسبب فقد فى إنتاج النباتات ، وتحتوى الفيروسات على مادة وراثية بسيطة جدا very simple genomes وتعتمد الفيروسات على عوائلها فى معظم عملياتها الحيوية ، ويحتوى عدداً بسيطاً من الفيروسات النباتية على DNA genome ، بينما يحتوى عدداً كبيراً منها على single-stranded RNA genome وهى تحتوى على على خيط واحد أو على عدد من جزيئات RNA ، ولمعظم الفيروسات غلاف بروتينى يتكون من واحد أو أكثر من polypeptide molecules من نوع واحد أو أكثر والذى يحمى جينوم الفيروس من التحلل . والأمراض الفيروسية ليست لها ميكانيكية خاصة فى دخول خلية العائل ، فالجدار الخلوى للخلية النباتية وطبقة الكيوتيكل تعتبر من العوامل التى تحمى النباتات من غزو الفيروسات ، وتعتمد الفيروسات النباتية على العصير الخلوى الذى ينتقل بفعل الفقاريات مثل الحشرات والنيماتودا ، كما يمكن أن تنتقل بواسطة الفطريات ، وفى بعض الحالات يعتبر animal transmitter كعائل وسطى

وبذلك يمكن لبعض الفيروسات النباتية أن تتضاعف داخل النسيج الحيواني، كما يمكن أن تتواجد بتركيزات مرتفعة داخل النسيج النباتى دون أن تسبب أى أعراض ظاهرة على العائل ، وبذلك تسمى فى تلك الحالة latent infection . بينما العديد من الفيروسات تسبب أمراض قاسية للنباتات حتى وإن وجدت بتركيزات منخفضة (شكل رقم ٧٦) .



شكل رقم ٧٦ . يوضح مقارنة معدل النمو وعدم الإصابة بالأمراض بين النباتات المعدلة وراثيا (أعلى الشكل) والنباتات غير المعدلة وراثيا من نباتات البابيا (أسفل الشكل)

ب - الضرر البيولوجي الناتج عن الفطريات ومقاومتة حيويا :

تعتبر الأمراض الفطرية من الأمراض الشائعة التى تسبب فقد معنوى من الناحية الإقتصادية فى إنتاج النباتات ، والمثال على ذلك هو مرض لفحة الأرز Leaf blast of rice والذى يسببه فطر *Pyricularia grisea* وهو أحد الأمثلة على الأمراض التى تسببها الفطريات فى النباتات ذوات الفلقة الواحدة . كما يتضح ذلك من الشكل التالي (شكل رقم ٧٧) :

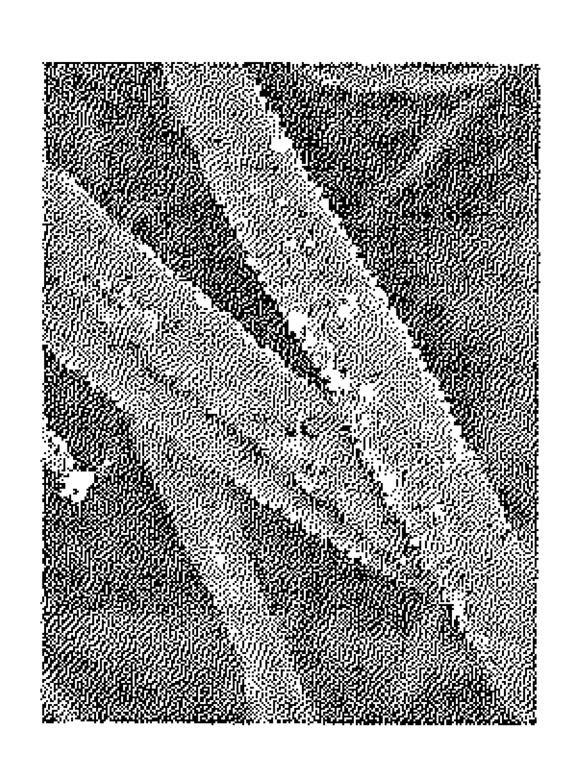


Fig. 77 . Rice leaf blast

وكذلك مرض black spot of rose والذى يسببه فطـــر *Diplocarpon rosae* وهذا المرض هو أحد الأمثلة على الأمراض التى تصيب النباتـــات ذوات الفلقتـــين وتتضح أعراض هذا المرض فى الشكل التالي (شكل رقم ٧٨) :

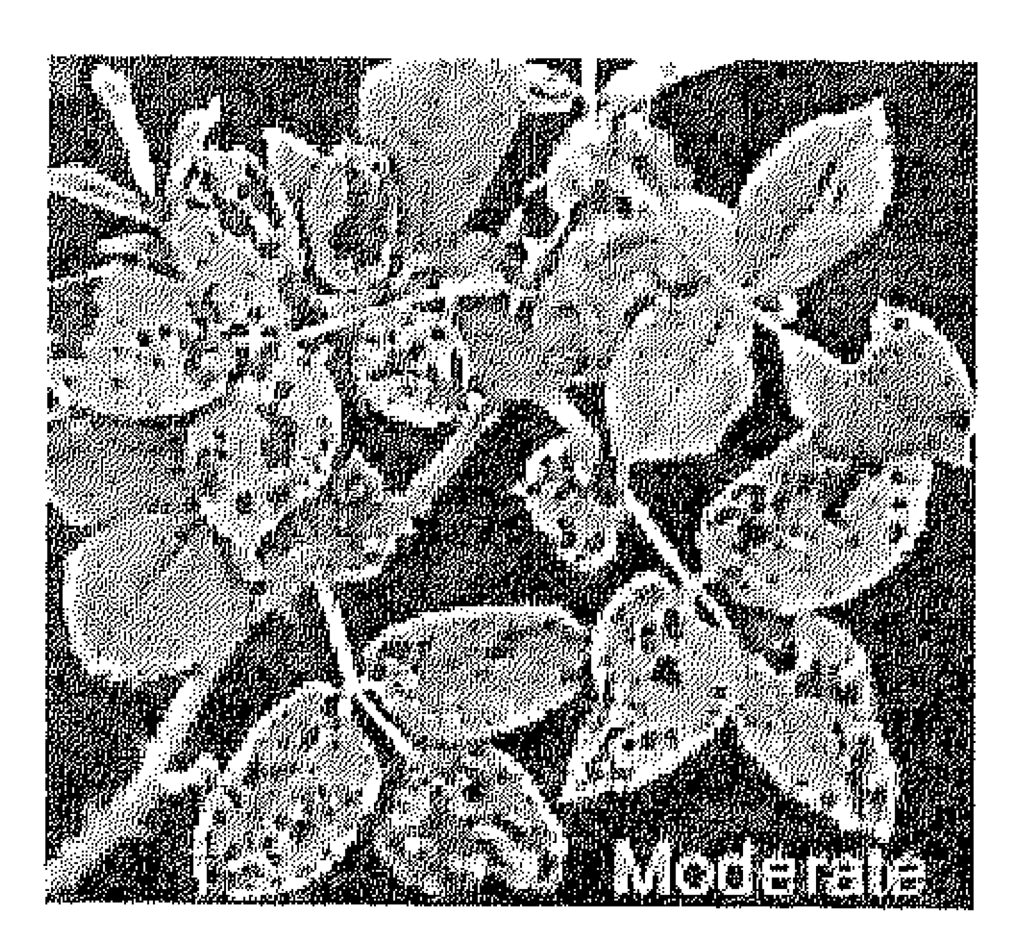


Fig. 78 . Black spot on rose

الشكل التالي (Fig. 79) يوضح مرض تعفن كوز الذرة الفيوزاريومي .

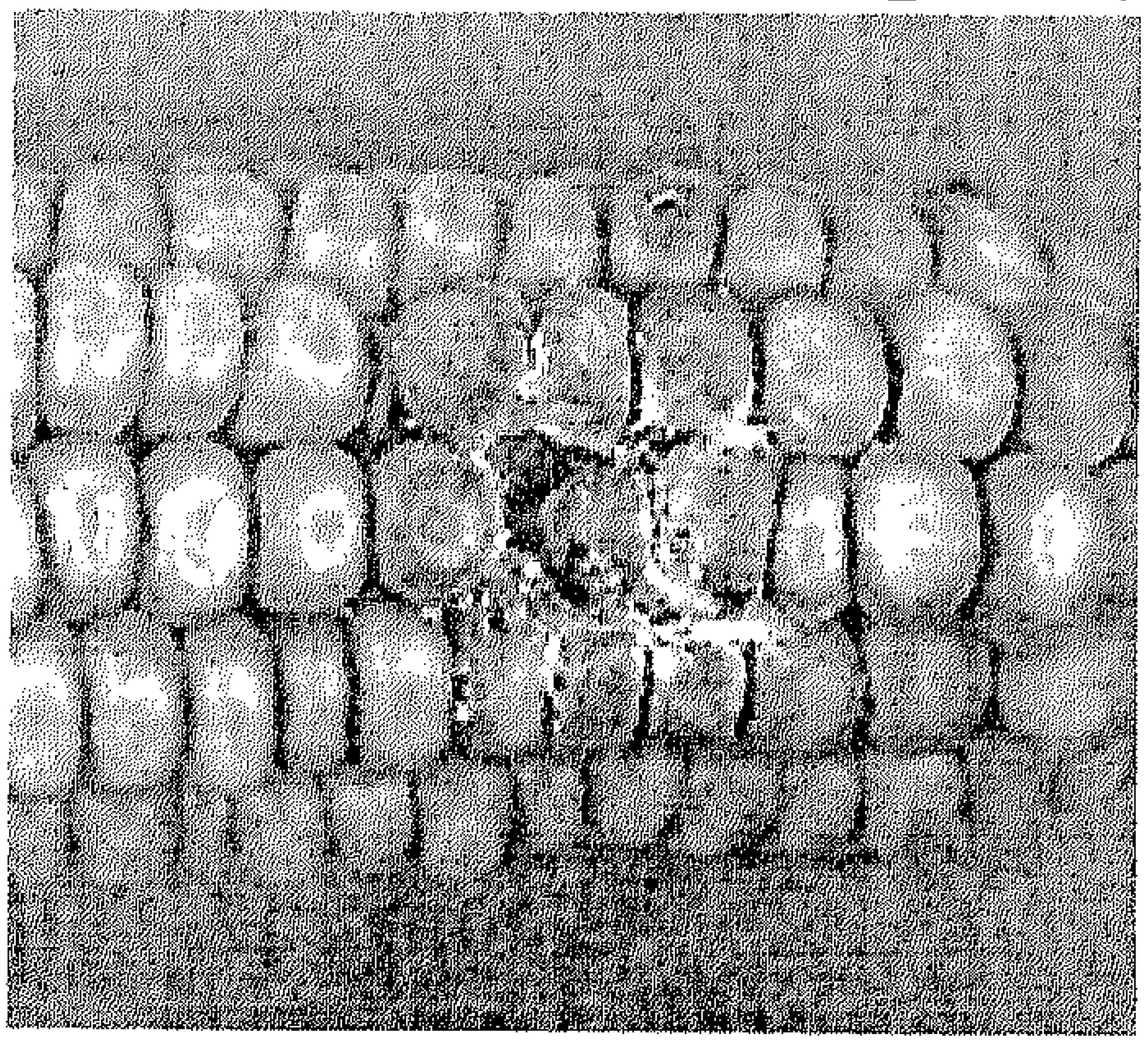


Fig. 79 . Fusarium ear rot symptoms associated with insect damage.

ومرض التعفن الفيوزاريومي لكيزان الذرة هو من أكثر الأمراض الشائعة التى تصيب الذرة ويمكن أن يلاحظ عندما تقترب النباتات من الحصاد ، وخطورة هذا المرض تعد منخفضة عادة فى وسط شمال الولايات المتحدة الأمريكية ، ولكنه يقلل من المحصول ومن الجودة ، وعادة ما تكون أعراض هذا المرض مرتبطة بشدة بالأضرار التى تحدثها ثاقبات الذرة الأوربية واليرقات التى تصيب كيزان الذرة European corn borer and corn earworm larvae . فالعديد من أنواع الفيوزاريوم يمكن أن تصيب حبوب الذرة بدون أن تسبب أعراض ظاهرة ولكنها تؤثر على جودة الحبوب وتنتج سموماً فطرية mycotoxins . وترجع الأهمية المبدئية لخطورة إصابة الفيوزاريوم لحبوب الذرة إلى مصاحبة تلك الإصابة بالسموم الفطرية fumonisins التى تسبب السرطان فى الإنسان ، ومن الأمراض التى تصيب حبوب الذرة أيضا مرض تعفن الحبوب الناتج عن الإصابة بالأسبرجلس وهو عادة ما يصاحب إصابة حشرية للكوز كما هو موضح بالشكل التالي (شكل رقم ٨٠) ، وعادة ما ينتج كلا نوعى الأسبرجلس ، *Aspergillus flavus and A. parasiticus* معظم السموم الفطرية most notorious mycotoxins in maize, the aflatoxins فى الذرة والتركيز الفعال لها هو ٢٠ جزءاً فى البليون (20 parts per billion [ppb]) ولذلك ازداد الاهتمام بهذه السموم عن السموم الفطرية الأخرى فى الذرة بسبب المعدل الفعال لها من التركيزات المنخفضة .

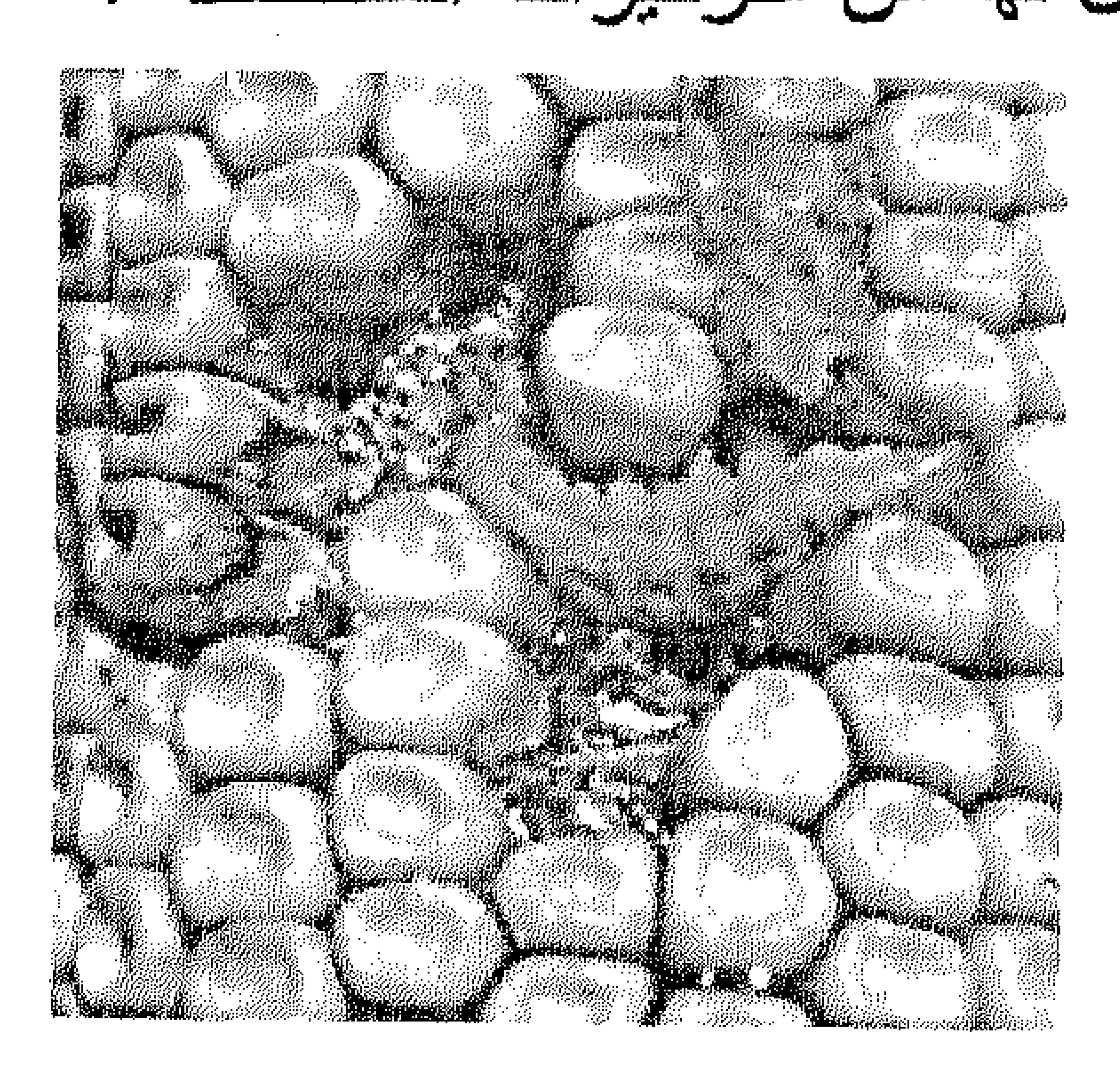


Fig. 80 . Aspergillus kernel rot symptoms associated with insect damage.

مواجهة الأمراض والسموم الفطرية بإنتاج الذرة المحور وراثيا بجينات من Bt :

خلال منتصف عام ١٩٩٠ تمت الموافقة على زراعة الذرة المحور وراثيا بجينات Bt فى عدد من الولايات بالولايات المتحدة الأمريكية لملاحظة هل المقاومة الحيوية للحشرات باستخدام *Bt maize* سيصاحبها مقاومة للأمراض التى تصاحب الحشرات التى تصيب الذرة أم لا ، وفى معظم الحالات فإن التجارب كانت تجرى لمقارنة الأمراض ومعدلات السموم الفطرية بين Bt hybrids والهجن القريبة منها، وفى هذه الدراسة لوحظت اختلافات بين الأنواع المختلفة للـ *Bt genes* (*or Bt* events) ، وفى كل الحالات لم تكن الجينات مثل بعضها فى تعبيرها الوظيفي ، فالهجن المختلفة للـ *Bt genes* يمكن أن يحدث فيها تعبير لأى من المواد البروتينية السامة التالية CryIA(b), CryIA(c), or Cry9C، وهى كلها تمثل أجزاءاً من المادة البروتينية السامة δ-endotoxins والتى تنتج بصفة أساسية عن بكتيريا *Bacillus thuringiensis* .

النتائج الموجودة فى الجدول التالي (Table 8) توضح خصائص المنتجات المختلفة لجينات *Bt* ، وعملية حدوث تعبير للجين الذى يقوم بإنتاج Cry proteins فى أنسجة معينة لنباتات الذرة يعتمد على gene promoter المستخدم فى عمل التحور الوراثي لجينوم الذرة transgenic genotype . فالمتحولات الوراثية بجين cryIA(b) والذى أعطى المتحولات التالية BT11 and MON810 والمعلمة بـ (YieldGard®) استخدم معه الجين بروموتر 35S من الفيروس use a CaMV (cauliflower mosaic virus) 35S gene promoter) وهذا الجين يحدث تعبير وظيفياً على المدى الطويل طوال موسم نمو النباتات فى كل الأنسجة ، بينما المتحولات بجين cryIA(b) والتى نتج عنها المتحولات ١٧٦ والمعلمة بـ(marketed as Knockout® and NatureGard®) استخدم معها خليط من البروموترز المعروفة في الأصل من نبات الذرة وهي متخصصة في نبات الذرة وبدورها متخصصة للعمل فى أنسجة معينة ، وهذه البروموترز هى عبارة عن a phosphoenolpyruvate carboxylase promoter والذى يحدث عنه تعبير وظيفي فقط فى الأنسجة النباتية الخضراء ، و pollen-specific promoter ، وعملية حدوث تعبير وظيفي لجين CryIA(b) فى حبوب الذرة يعد عاملاً هاماً جداً فى تحديد حجم الإرهاب الذى يقع على كمية الحبوب التى يمكن أن تتغذى عليها يرقات ثاقبات الذرة الأوربية European corn borer larvae والتى يترتب عليها معدل كبير إصابة الحبوب بالفيوزاريوم .

Table 8 . *Bt events* commercially available in the United States.

Bt event	Trademark	Cry protein	Promoter(s)	Expression
176	KnockOut, NatureGard	Cry1A(b)	PEPC + pollen	Green tissue + pollen
BT11	Yieldgard	Cry1A(b)	CaMV 35S	All tissue
CBH351	StarLink	Cry9C	CaMV 35S	All tissue
DBT418	BTXtra	Cry1A(c)	CaMV 35S	All tissue
MON810	Yieldgard	Cry1A(b)	CaMV 35S	All tissue

الشكل التالي (شكل رقم ٨١) يوضح عينات من كيزان الذرة جمعت فى عام ١٩٩٧ ، ومنه يتضح أن الكيزان الناتجة عن نباتات غير محورة وراثيا بجينات *Bt* تعتبر أكثر إصابة بالحشرات التى تغذت على كمية كبيرة من الحبوب ، علاوة على التعفن الفيوزاريومى الذى أصاب الكيزان ، بينما فى المقابل كانت كيزان *Bt* hybrid أكثر مقاومة لهذا الضرر البيولوجى حيث كانت أقل أو منعدمة الإصابة الحشرية والفطرية .

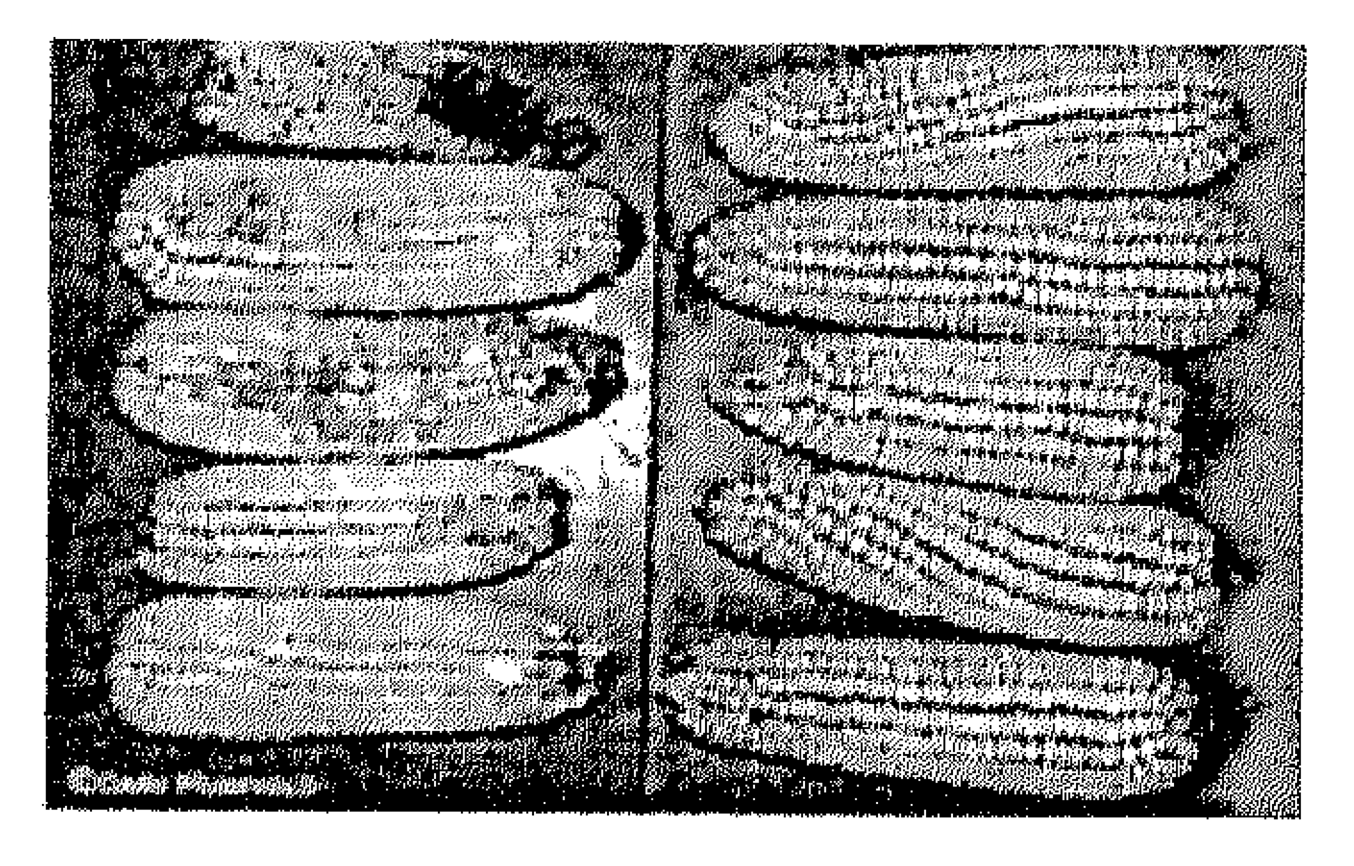


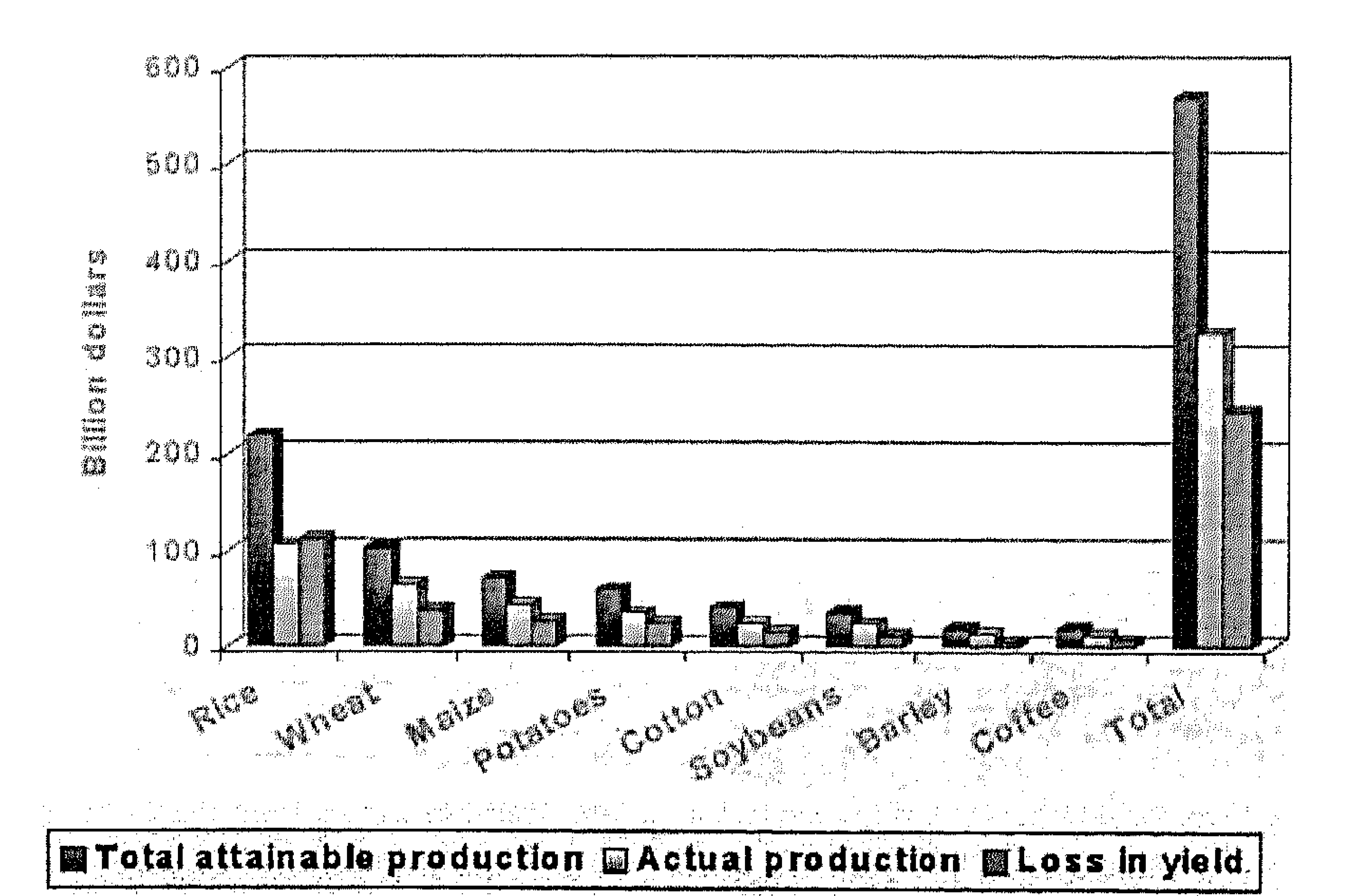
Fig.81 . Ear samples from a 1997 field trial. Non*Bt* hybrid is heavily damaged by insect feeding and Fusarium ear rot, but the near-isogenic *Bt* hybrid has little or no damage.

الفقد العالمي فى إنتاج الغذاء بسبب الأضرار التى تسببها الكائنات الحية :

الشكل التالي (شكل رقم ٨٢) يوضح حجم الضرر البيولوجي المتسبب فى فقد إنتاج الغذاء من خلال كمية الإنتاج الكلي العالمي والإنتاج الحقيقي بالبليون طن

خلال الفترة من عام ١٩٨٨ – ١٩٩٠ لثمانية محاصيل رئيسية هى : الأرز ، القمح، الذرة ، البطاطس ، القطن ، فول الصويا ، الشعير ، البن .

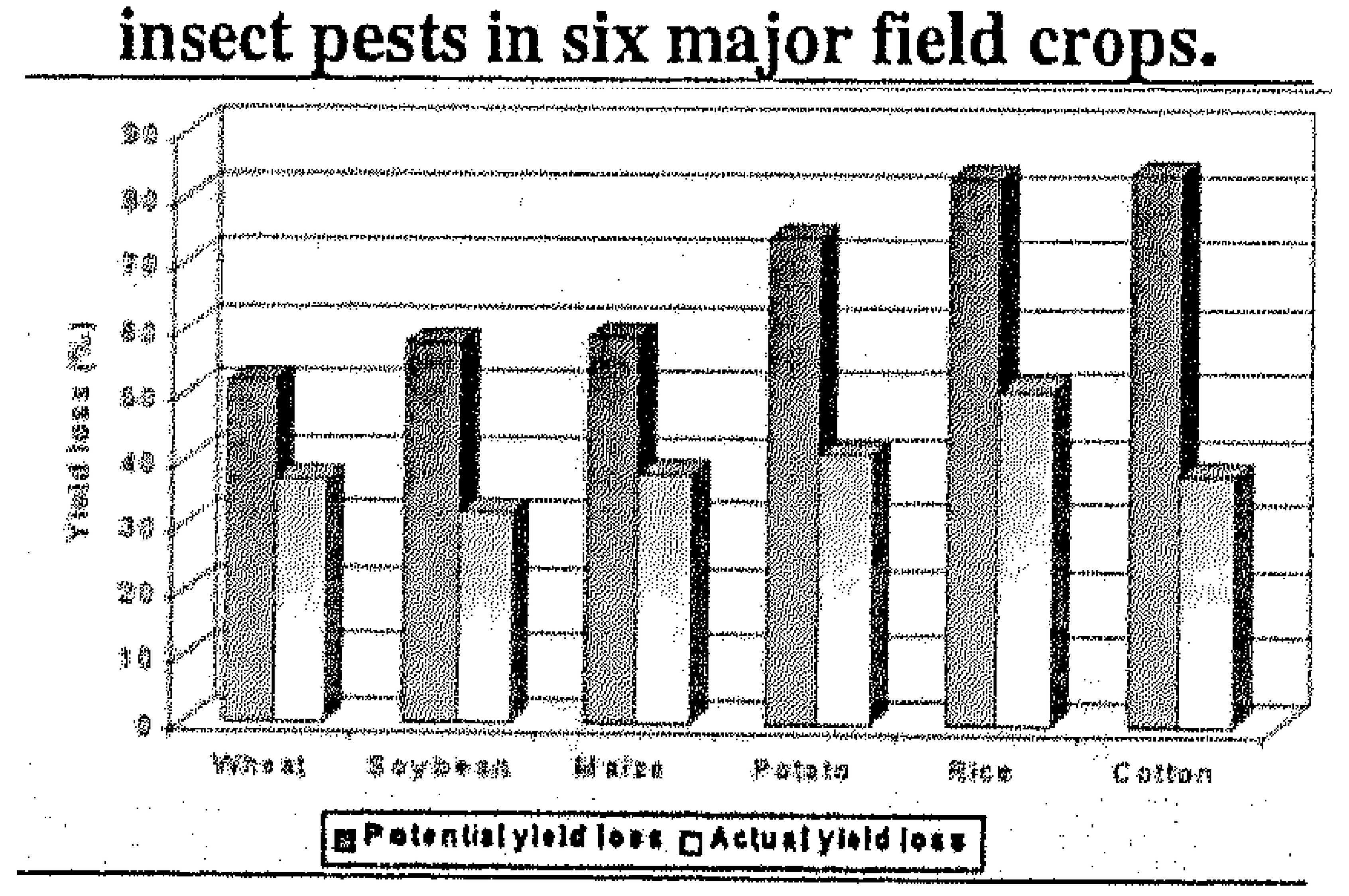
Fig. 82 . Attainable and actual production of eight major field crops (1988-90) .



Source: Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schonbeck, F., and Weber, A. 1995. Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Amesterdam,The Netherlands:Elsevier Publishing Co.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٣) يوضح حجم الضرر البيولوجي المتسبب فى فقد الغذاء من خلال النسبة المئوية للفقد فى المحصول والراجع للإصابة بالحشرات والأمراض النباتية والحشائش فى ٦ محاصيل رئيسية خلال الفترة من ١٩٨٨ – ١٩٩٠ موضحا الفقد المحتمل والفقد الحقيقي فى المحصول والراجع للإصابة الحشرية .

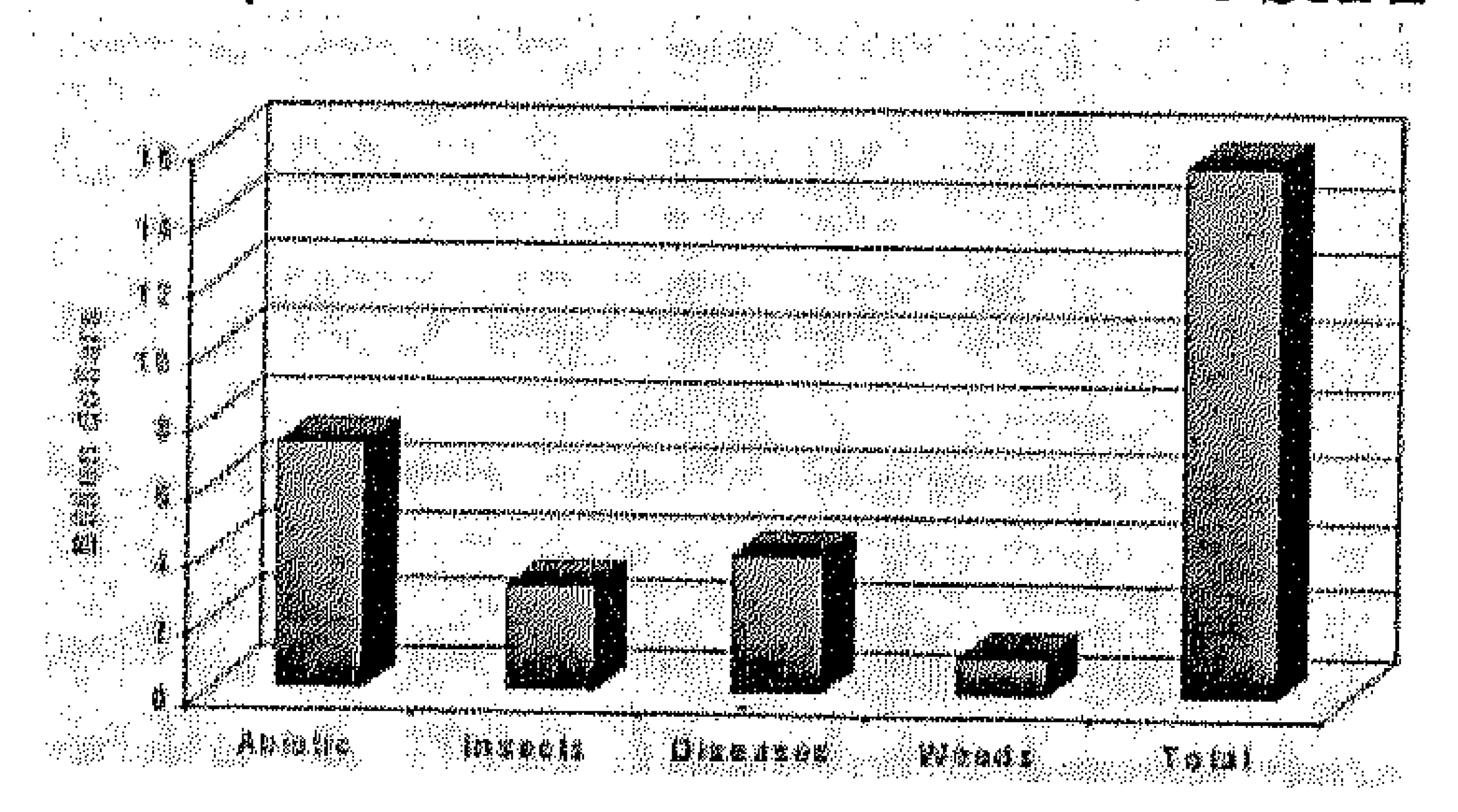
Fig. 83 . Estimated yield losses due to insects, diseases and weeds in six major field crops (1988-90) Potential and actual yield losses due to insect pests in six major field crops.



Source : Pinstrup-Andersen, and Cohen, M. 2000. Modern biotechnology for food and agriculture: Risks and opportunities for the poor. Pages 159-172 in Agricultural Biotechnology and The Poor (Persley, G.J., and Lantin, M.M., eds.). Washington DC, USA: Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Science Foundation.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٤) يوضح الفقد فى المحصول والراجع إلى الإجهادات البيئية ، الإصابة بالحشرات والأمراض والحشائش . وتصل قيمة هذا الفقد لأكثر من ١٤ بليون دولار .

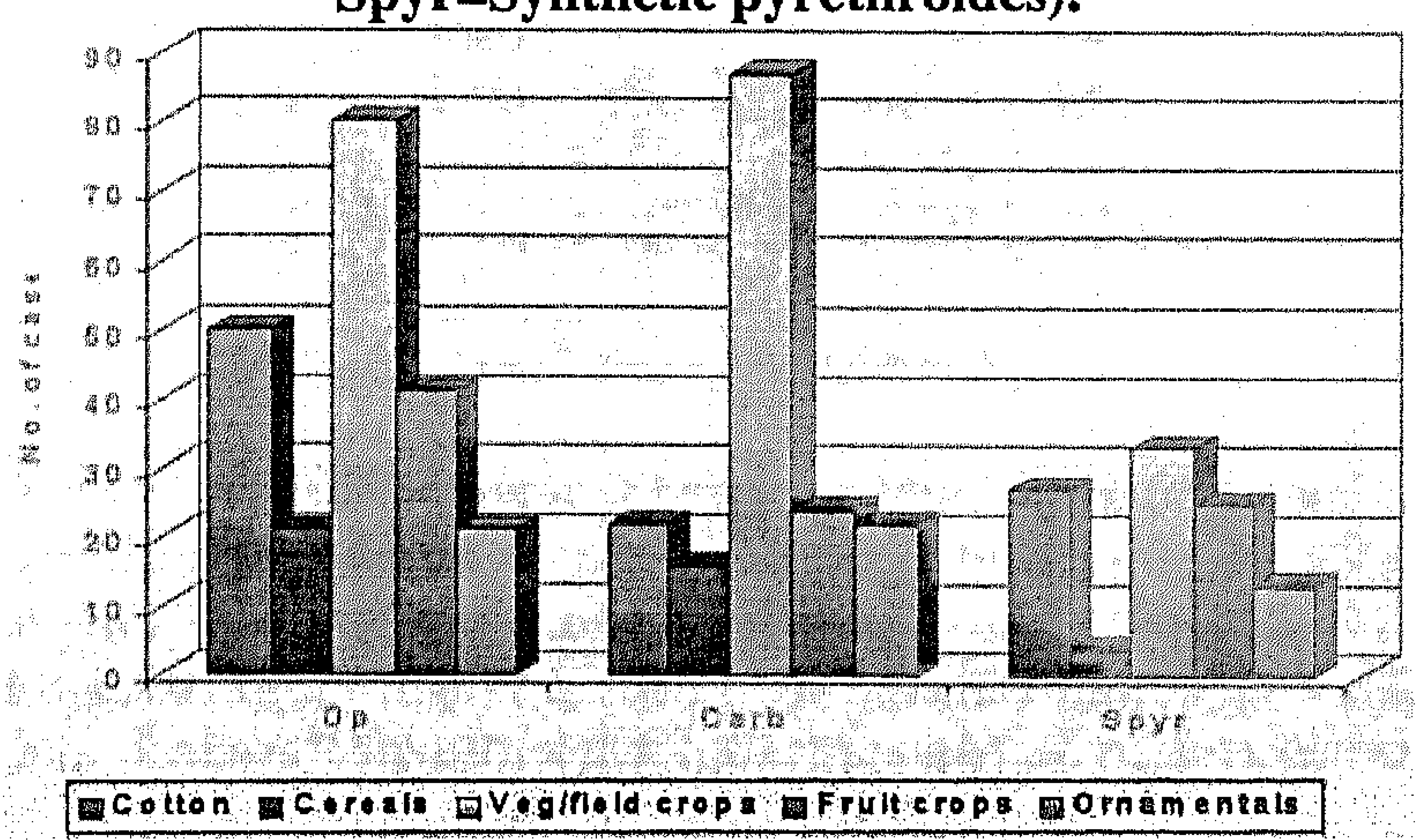
Fig.84 . Yield loss due to abiotic stress factors, insects, diseases and weeds in the SAT



Source: ICRISAT. 1992. Medium-Term Plan. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India (limited circulation).

الشكل التالي (شكل رقم ٨٥) يوضح تكون صفة المقاومة فـــى الحشـــرات لثلاثة مبيدات حشرية ، وهنا تكمن المشكلة من استخدام المبيـــدات عـــلاوة علـــى الأضرار البيئية الناتجة عن إستخدام المبيدات .

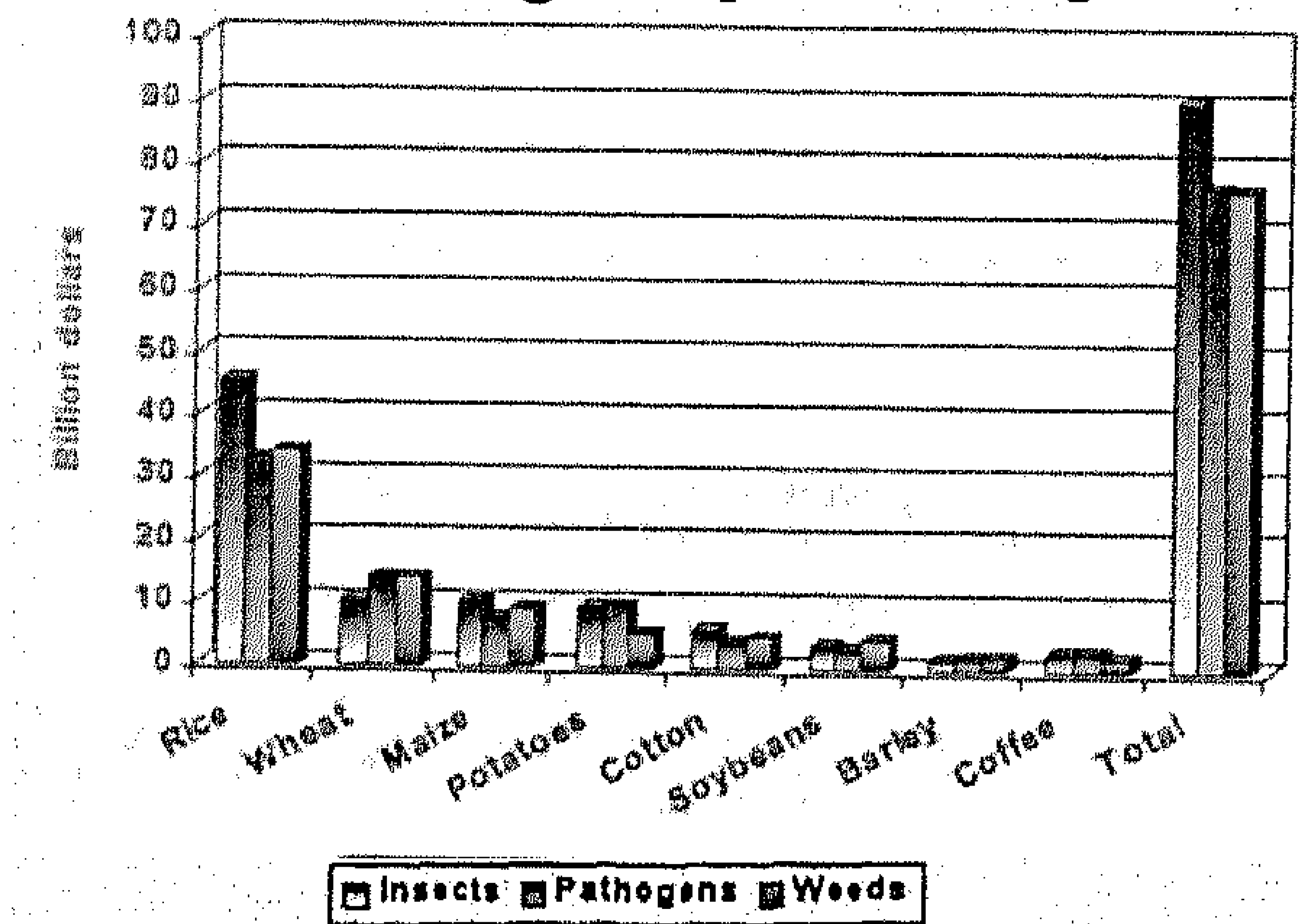
Fig. 85 . Development of insect resistance to different groups of insecticides (Op=Organophosphates, Carb= Carbamates, Spyr=Synthetic pyrethroides).



Source: Rajmohan, N. 1998. Pesticide resistance: A global scenario. Pesticides World 3(5): 34-40.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٦) يوضح حجم الفقد فـــى المحصـــول مقـــدرا بالبليون دولار والراجع للإصابة بالحشرات ، الأمراض النباتية والحشـــائش فـــى ٨ محاصيل رئيسية خلال الفترة من عام ١٩٨٨ – ١٩٩٠ ومنه يتضح أن أكثـــر معدلات الفقد فى الإنتاج كانت ترجع إلى الإصابة بالحشرات والتى تسببت فى فقد يقدر بحوالي ٩٠ بليون دولار ، يليها المسببات المرضية والحشائش حيث سبب كل منهما فقداً فى المحصول يقدر بحوالي ٧٥ بليون دولار .

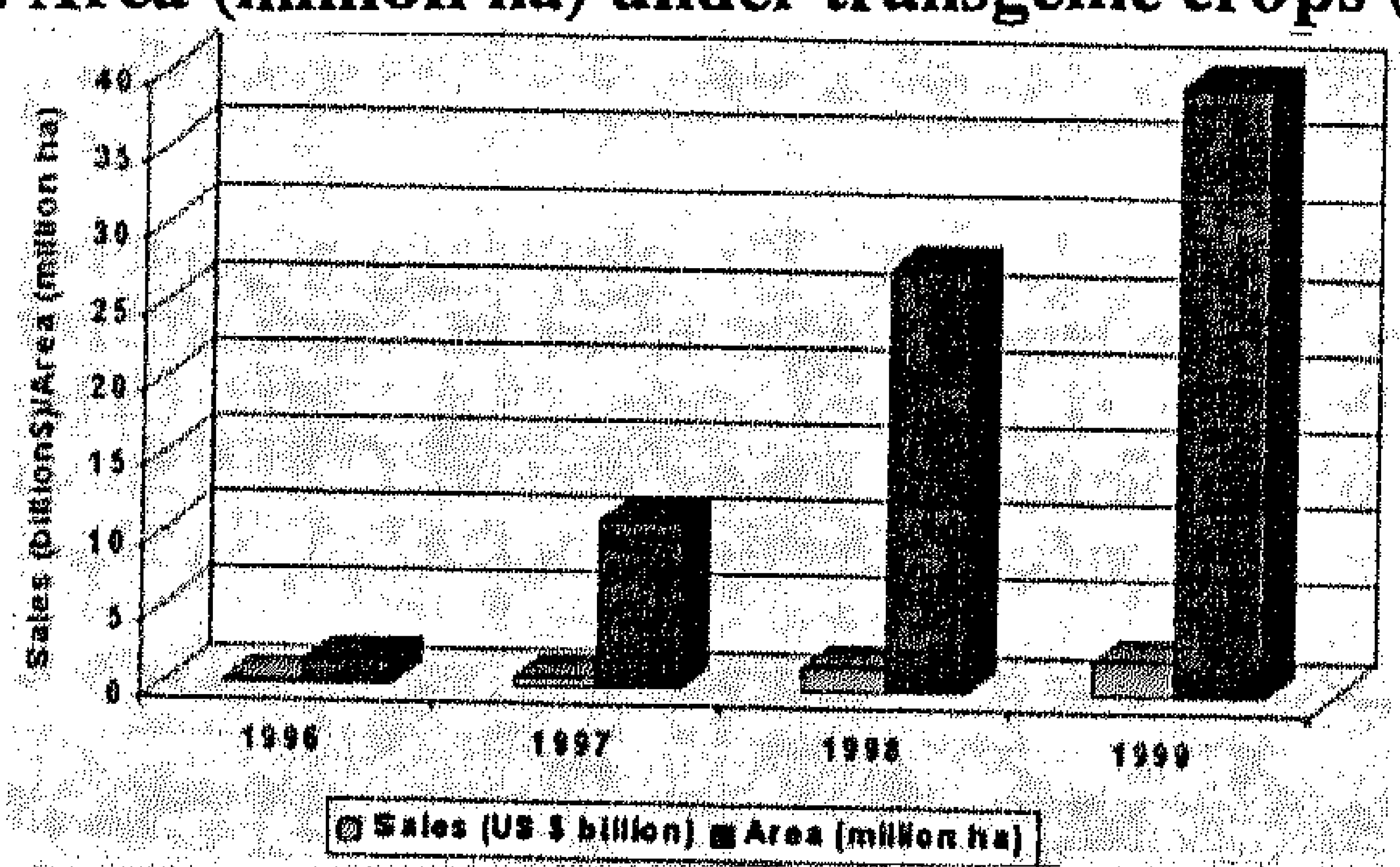
Fig. 86 . Estimated yield losses due to insects, diseases and weeds in eight major field crops (1988-90) .



Source: Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schonbeck, F., and Weber, A. 1995. Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Amesterdam,The Netherlands:Elsevier Publishing Co.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٧) يوضح المساحة المنزرعة بالمحاصيل المحورة وراثيا بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ - ١٩٩٩ ، وكما هو واضح من الشكل أنه حدثت زيادة تدريجية فى معدل زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا ومعدلات الترويج لها فى العمود الأيسر .

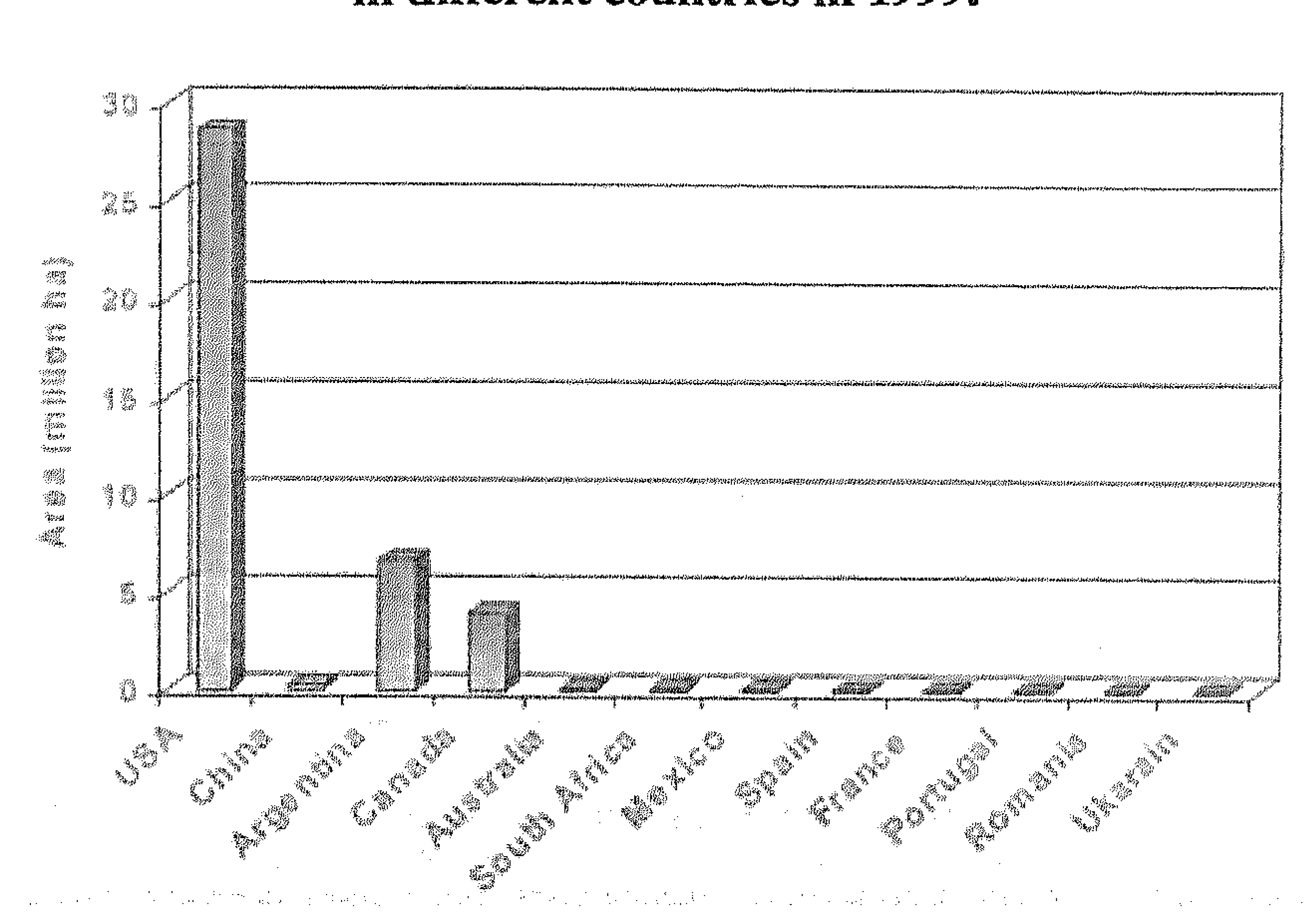
Fig. 87 . Area (million ha) under transgenic crops (1996-99)



Source: Serageldin, J. 2000. The challenge of poverty in the 21st Century. The role of science. Pages 25-31 in Agricultural Biotechnology and the Poor (Persley, G.J. and Lantin, M.A., eds).Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Academy of Sciences, Washington, D.C., USA.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٨) يوضح المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا بالمليون هكتار فى ١٢ دولة ، ومنه يتضح أن الولايات المتحدة الأمريكية (أكثر من ٢٥ مليون هكتار) هى أكثر دول العالم فى زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا ، تليها الأرجنتين (أكثر من ٥ مليون هكتار) ثم كندا (حوالي ٣ ملايين هكتار) ، أما باقي الدول فلا زالت معدلات زراعة المعدلة المحورة وراثيا بها تكاد تكون منخفضة جدا أو منعدمة .

Fig. 88 . Area (million ha) under transgenic crops in different countries in 1999.

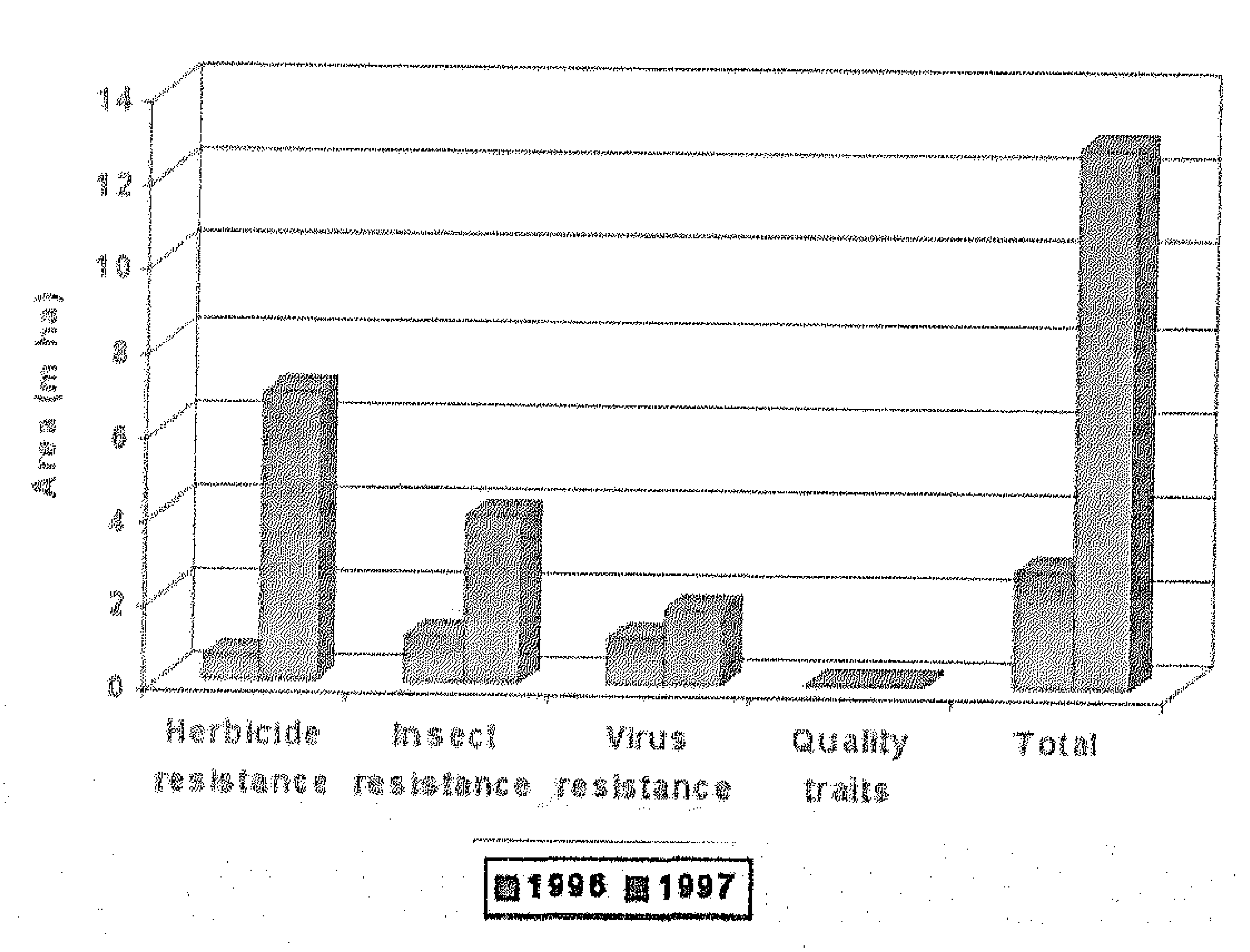


Source: Serageldin, J. 2000. The challenge of poverty in the 21st Century. The role of science. Pages 25-31 in Agricultural Biotechnology and the Poor (Persley, G.J. and Lantin, M.A., eds). Consultative Group on International Agricultural Research and U.S. National Academy of Sciences, Washington, D.C., USA.

الشكل التالي (شكل رقم ٨٩) يوضح المساحة بالمليون هكتار المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا بصفات مختلفة خلال الفترة من عام ١٩٩٦ إلى عام ١٩٩٧ لمواجهة الضرر البيولوجي ، ومنه يتضح زيادة معدل زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا خلال عام ١٩٩٧ عن عام ١٩٩٦ ، وأن المساحة المنزرعة بالمحاصيل المقاومة لمبيدات الحشائش كانت هى أكبر المساحات (أكثر من ٦ ملايين هكتار) ، تليها مساحات المحاصيل المقاومة للحشرات (أكثر من

٣ ملايين هكتار) ، ثم مساحة المحاصيل التى تحمل صفة المقاومـــة للأمـــراض الفيروسية (حوالي ١,٥ مليون هكتار) ، أمـــا بالنســـبة للمســـاحات المنزرعـــة بمحاصيل لتحسين الجودة الإنتاجية كانت تكاد تكون صفر خلال تلك الفترة .

Fig. 89 . Area (million ha) under transgenic crops with different traits in 1996 and 1997



Source: James, C. 1998. Global status and distribution of commercial transgenic crops in 1997. Monitor 35: 9-12.

الخلاصة :

تسبب الفطريات أضراراً كثيرة بالنباتات ، كما يمكن أن تكون بعضها مهمـــة مثل mycorrhizae والتى تقيم علاقة تكافلية مع جذور النباتات ، والفطريات تعتبر مرتبطة بشدة بالكائنات الحيوانية عنها بالنباتات ، وهى عادة ذات نموات هيفيـــة ، ذات نواة حقيقية ، تنتج جراثيم يغيب فيها الكلوروفيل ، يتكون جدارها الخلوى من الشيتين chitin وهو يوجد فى الفطريات ولا يوجد فى النباتات ويختلط الشيتين مع مركبـــات كربوهيدراتيـــة تشـــمل cellulose ، والصـــورة الرئيســـية لتخـــزين الكربوهيدرات هى الجليكوجين كما يوجد فى الكائنات الحيوانيـــة ولا يوجـــد فـــى الكائنات النباتية ، وهى عادة saprobes أى تحصل على احتياجاتها الغذائية من مواد عضوية غير حية ، أو symbionts أى تعيش مع كائنات أخرى فى علاقة تعاونية ،

أو قد تكون متطفلة parasites . وتتكاثر خضريا عن طريق الهيفات . واندماج الهيفات مع بعضها يكون الميسيليوم والذى يمكن أن يندمج ليكون الأجسام الثمرية fruiting body كما فى فطر عيش الغراب .

الأسئلة :

١- ما العوامل التى تؤدي إلى الفقد فى إنتاج الغذاء وما هو دور الهندسة الوراثية فى الحد من هذا الفقد وزيادة الإنتاج ؟

٢- ما رأيك في الأضرار البيولوجية الناتجة عن الفيروسات والفطريات وكيفية مقاومتها حيويا ؟

٣- ما تقييمك لخطورة الإصابات الحشرية لكيزان الذرة وعلاقتها بالإصابات الفطرية وأثر ذلك على الإنسان ؟

٤- أكتب موضوعا عن دور الهندسة الوراثية فى التغلب على الإصابات الحشرية والفطرية لكيزان الذرة وأثر ذلك على صحة الإنسان والبيئة ؟

٥- ما رأيك عن تطور زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا فى العالم اعتبارا من عام ١٩٩٦ وحتى الآن وماذا تستنتج من ذلك ؟

٦- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- تنتقل الفيروسات النباتية عن طريق العصير الخلوي بفعل الفقاريات مثل الحشرات والنيماتودا بالرغم من أنه ليس لها ميكانيكية خاصة فى دخول خلية العائل النباتي ؟

ب- كيزان *Bt* hybrid فى الذرة تكون أقل أو منعدمة الإصابة الحشرية والفطرية مما سيحمي الإنسان من التأثيرات السامة للسموم الفطرية ؟

ج- الفقد العالمي فى المحصول الراجع للإصابة بالأمراض يعد أكبر من الفقد الناتج عن الحشرات والحشائش وأقل من الفقد الناتج عن عوامل غير حية؟

د- المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا فى عام ١٩٩٩ كانت أكبر منها فى عام ١٩٩٧ ؟

هـ- الولايات المتحدة الأمريكية هى أكبر دولة فى العالم تقوم بزراعة المحاصيل المعدلة وراثيا تليها الأرجنتين ثم كندا ؟

و- المساحة المنزرعة على مستوى العالم بالمحاصيل التى تحمل صفة المقاومة للأمراض الفيروسية أقل من مساحات المحاصيل المقاومة للحشرات ؟

الباب الخامس

الفصل الأول

إنتاج النباتات المعدلة وراثيا لمواجهة المسببات المرضية والحشرات

الأهداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يوضح دور الهندسة الوراثية فى دعم صفة المقاومة الحيوية للنبات من خلال إدخال صفات جديدة للنباتات مثل المقاومة لمبيدات الحشائش ، والمقاومة للحشرات ، والمقاومة للفيروسات ، والمقاومة للفطريات والبكتيريا .

٢- يستوعب كيفية إدخال صفات جديدة للنباتات .

٣- يتعرف على أهمية إنتاج والتوسع فى زراعة النباتات المعدلة وراثيّاً بجينات المكافحة للحشرات .

٤- يفهم تكنولوجيا إنهاء حياة النباتات المعدلة وراثيا ودورها فى حماية الملكية الفكرية للشركات القائمة على إنتاج النباتات المعدلة وراثيا .

٥- يعي بالتأثيرات المتتابعة لإدخال صفات المقاومة الحيوية للنباتات وأثرها فى إنتاج الغذاء .

٦- يبين المخاطر المتوقعة من تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة .

٧- يتعرف على كيفية عمل تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة .

٨- توضيح علاقة الهندسة الوراثية بالبيئة .

٩- يستوعب علاقة إنتاج البذور المنتحرة بالبيئة وبأثرها على البيئة .

مقدمة :

حتى اليوم لا زال يوجد ٨٠٠ مليون فرد لا يستطيعون أن يحصلوا على احتياجاتهم اليومية من الغذاء بسبب الفقد فى إنتاج الغذاء و الذى يرجع إلى مسببات أمراض النبات كأحد عوامل الفقد فى الإنتاج .

- يلعب سوء التغذية الناتج عن نقص الغذاء بسبب الإرهـاب البيولـوجى دوراً جوهرياً فى نصف حالات موت الأطفال الأقل من خمس سنوات على مسـتوى العالم فى الدول النامية والذين يقدر عددهم الكلى بـ ١٢ مليون حالة موت .
- بالإضافة لنقص الغذاء فإن نقص العناصر الغذائية الصغرى خاصة فيتامين A، الحديد ، اليود تعتبر أيضا من المشاكل الخاصة بسوء التغذية .
- يوجد فى الدول النامية حوالى ٦٥٠ مليون من الفقراء الذين يعيشون فى هـذه الدول يعد نشاطهم الإقتصادى الأساسى هو الإنتاج المحلى للغذاء وبدون زراعة ناجحة وهؤلاء لا يستطيعون أن يحصلوا على احتياجاتهم .

يعد حوالى ٦٠- ٧٠ % من الإنتاج الغذائى يحتوى علـى مشـتقات معدلـة وراثيا. وفى عام ١٩٩٨ تم زراعة أكثر من ٤٥ مليون فدان فى الولايات المتحـدة الأمريكية بنباتات محورة وراثيا محققا ذلك زيادة قدرها ٢٥٠% عـن زراعـات ١٩٩٧ ، وتحتوى هذه النباتات المحورة وراثيا على ٢٥% من المساحة المنزرعة بالذرة ، و٣٨% من المساحة المنزرعة بفول الصـويا ، و٤٥% منهـا منزرعـة بالقطن . وتعد المساحة المنزرعة بالمحاصيل الغذائية المحورة وراثيا على مستوى العالم فى عام ١٩٩٨ أكثر من ٦٩ مليون فدان ، و١٥% منها منزرعة فى الـدول النامية . لقد زادت مفهومنا عن العمليات البيولوجية من خلال إدخـال معلومـات وراثية جديدة للنباتات بإستخدام تقنيات الهندسة الوراثية فـى المقاومـة الحيويـة لمسببات أمراض النبات .

تطبيقات الهندسة الوراثية فى مواجهة الفقد فى إنتاج الغذاء :

١- المقاومة لمبيدات الحشائش Herbicide Resistance :

تعتبر عملية إدخال صفة المقاومة لمبيدات الحشائش هى من الأهداف المبكرة لتقنيات إنتاج نباتات معدلة وراثيا منذ أن تم الاهتمام باستخدام الجينات كعلامـات انتخابية selectable marker .

٢- المقاومة الحيوية للحشرات :

تعتبر المقاومة الحيوية للحشرات أحد التطبيقات الهامة التى استخدمت علـى نطاق واسع بنجاح من خلال اتخدام المادة البروتينية السامة proteinaceous toxin encoded by *Bacillus thuringiensis (B.t.)*، وبذلك فقد تم إنتاج نباتات قطن وذرة

معدلة وراثيا تحتوى على جين *B.t.* وقد تم تنميتها لأول مرة فى عام ١٩٩٦ ، ومن الجينات الأخرى التى تحدث صفة المقاومة للحشرات protease inhibitors .

٣- المقاومة الحيوية للفيروسات :

تعتبر المقاومة الحيوية للفيروسات باستخدام الهندسة الوراثية فعالة جـدا فـى مكافحة الفيروسات مثل إنتاج العديد مـن transgenic melon and squash crops والتى أصبحت الآن متاحة على نطاق تجارى بعد أن أصبح الإنتاج بحاجـة إلـى إدخال صفة المقاومة للفيروسات فى الزراعة .

٤- المقاومة الحيوية للفطريات :

يتم ذلك من خلال استخدام الجينات التى تقوم بإنتاج إنزيم الشيتينيز الذى يقوم بتحليل الجدر الخلوية للفطريات ، كما يمكن أن يحدث هذا الإنزيم مقاومة حيويـة للحشرات. وفى إطار المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام المبيدات الميكروبية فإنه يوجد أيضاً Chitinase gene فى سلالة *Bacillus licheniformis* والتى تقوم بإنتاج كميات كبيرة جداً من إنزيم Chitinase الذى يقوم بتحليل Chitin، والشيتين Chitin يوجد فى كيوتيكل الكائنات البحرية من الفقاريات ، الهيكل الخارجى للحشـرات ، الجدار الخلوى للفطريات ، بينما لا يوجد فى الفقاريات والكائنات النباتية ولذلك فإن إنزيم Chitinase يعتبر مبيداً حيوياً ذا خاصية انتخابية حيث يعمـل ضـد بعـض الكائنات ولا يعمل ضد البعض الآخر ، حيث يقوم بتحليل الشيتين ، ولقد أصبح له اهتماماً خاصاً فى مكافحة كل من الفطريات التى تسبب الأمراض النباتية وكـذلك الآفات الحشرية، ولقد أوضحت دراسات عديدة أن إنزيم Chitinase يتسـبب فـى زيادة معدل موت الحشرات بفعل المبيد الحيوى *Bt* . ولذلك فإن تطبيق استخدام هذا الإنزيم ضمن تحضيرات المبيد الميكروبى Bt يؤدى إلى اتصـال جيـد وأفضـل للـ *Bt* مع الغشاء الخلوى للقناه الهضمية للحشرات، استخدام مثل هذه المبيـدات سوف تكون مفيدة جداً فى القضاء على صفة المقاومـة الموجـودة عـادة فـى الحشرات ضد مبيد سلالات Bt . ومع هذا تتميز عملية التعديل الوراثى للنباتـات بجين Chitinase بجانب جين Bt سوف تعمل على عـدم إمكانيـة تكـوين صـفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المعدلة وراثيّا بهذه الجينات معاً ، على العكس مما لو كانت النباتات معدلة فقط بجين Bt والتى يمكن أن تجعل إمكانية فى تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد هذه النباتات المعدلة بجين واحد ،

٤- المقاومة الحيوية للأمراض البكتيرية :

وهذه تعتبر من الإستراتيجيات الهامة فى مواجهة المسببات المرضية من خلال الحفاظ على كمية وجودة الحبوب المخزونة المحتوية على البروتين ، وهذا يعتبر من الأهداف المبكرة للهندسة الوراثية . فالحفاظ على جودة ثمار الطماطم والثمار الأخرى يتم من خلال إدخال الجينات التى توقف طراوة الثمار . وحيث إنه تراكم بالبذور النباتية كميات كبيرة من الكربوهيدرات والنيتروجين فى شكل بروتين ونشا لإعطاء الطاقة اللازمة لعملية إنبات البذور ؛ لذا فإن العديد من الحشرات تتغذى على هذه المصادر الغنية بالعناصر الغذائية. وتعبر النباتات عن استيائها من هذه الهجمات بإنتاج كميات من مثبطات إنزيمات Protease, amylase فى البذور. وبذلك فإنه يمكن القول أن مواجهة المسببات المرضية بالنباتات المعدلة وراثيا بجينات *Bt* أو بالجينات المنتجة لمثبطات الإنزيمات التى لها علاقة بعملية الهضم فى الحشرات تؤدى إلى إحداث خلل فى الوظائف الفسيولوجية والكيموحيوية لمعدة الحشرات ، الأمر الذى يؤدى إلى موت الحشرات التى تهاجم هذه النباتات فى النهاية . وإستراتيجيات إنتاج النباتات المعدلة وراثيا تلعب دوراً هاماً فى المكافحة الحيوية للحشرات التى تهاجم الجذور والسيقان والثمار ، الأمر الذى يترتب عليه عدم إستمرار النباتات المعدلة وراثياً بمثل هذه الجينات كعوائل لهذه الحشرات مما يعكس مدى أهمية المكافحة الحيوية للآفات باستخدام النباتات المعدلة وراثياً بالجينات المنتجة للمواد البروتينية السامة المضادة للآفات .

المقاومة الحيوية لمرض اللفحة البكتيرية فى الأرز : تم استخدام جهاز قاذف الجينات الموضح فى شكل ٨٧ فى إنتاج نباتات من الأرز مهندسة وراثيا XA21 GENETICALLY MODIFIED RICE لمقاومة مرض اللفحة البكتيرية فى الأرز. وتم إجراء هذا العمل فى جامعة كاليفورنيا بديفز ، وفى الأكاديمية الصينية لعلوم الزراعة . وقد تم عزل جين Xa21 gene فى جامعة كاليفورنيا ونقل لسلالة الأرز الصينى باستخدام جهاز قاذف الجينات . والأشكال التالية (شكل رقم ٩٠ ، ٩١) يوضح نباتات الأرز المقاومة لمرض اللفحة البكتيرية وهى النباتات المعدلة وراثيا بجين Xa21 gene .

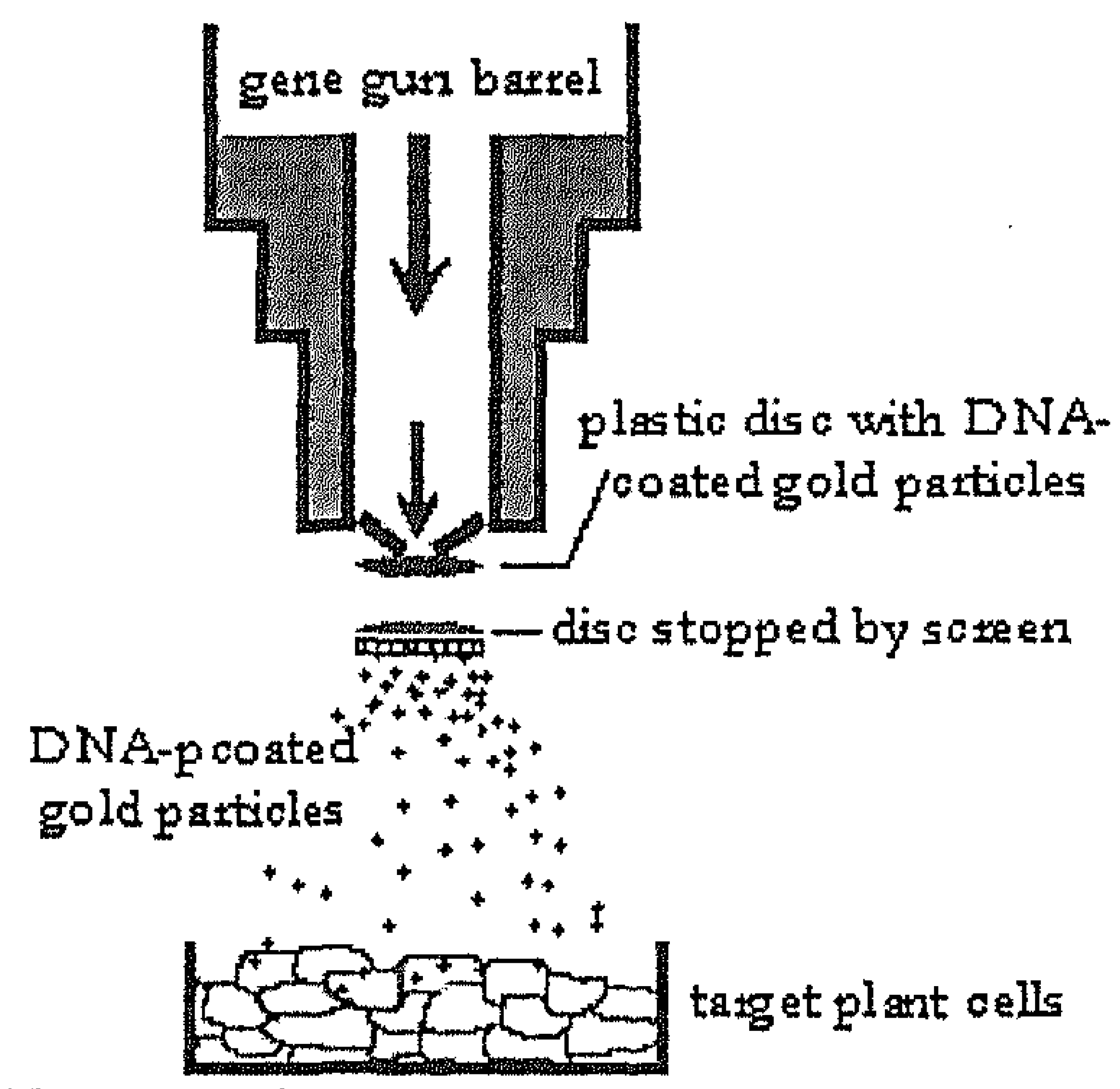


Figure . 90. Functioning of the gene gun.

شكل (٩١) نباتات الأرز المقاومة لمرض اللفحة البكتيرية

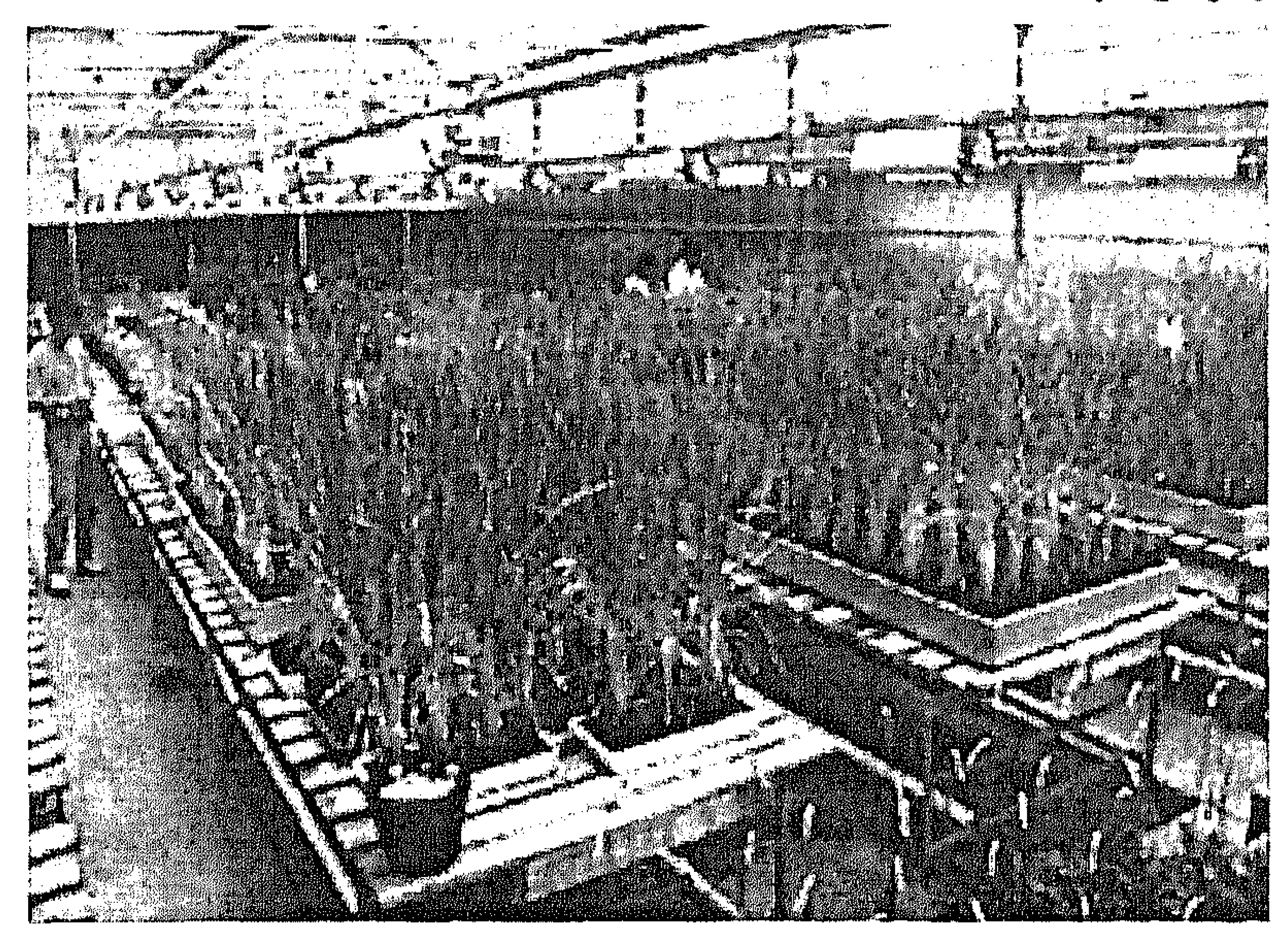


Figure. 92. Xa21 rice plants being assessed at ILTAB greenhouse

٥- المقاومة الحيوية fhاستخدام مضاد الشفرة : Antisense :

هذه التقنية تعتمد على تعبير RNA المكمل لذلك الذى يحتوى على الشفرات التى سيتم ترجمتها إلى بروتين مما سيجعل الجينات متوقفة عن العمل gene "off This "turns expression وقد تم حديثا وبتقنية عالية جعل الجين غير فعال gene inactivation وهو ما يعرف (known as RNA interference , RNAi) وهو يعتمد على إدخال تتابع من حلزون مزدوج من DNA يسمى hairpin يكون مكملاً للجين المستهدف to the target gene .

نقل الجينات إلى النباتات :

Transgenic plants :

- تعتمد طريقة تربية النبات على :

١- تجميع الصفات الجيدة من الأصناف المنزرعة عن طريق التهجين بينها وانتخاب النسل الذى يحتوى على الصفات الجيدة من كلا الأبوين .

٢- أو من خلال التهجينات النوعية Interspecific hybridization لنقل الجينات المقاومة لبعض الأمراض من الأنواع البرية إلى الأصناف المنزرعة .

- تعتمد طرق التربية أساسا على نقل الجينات بواسطة التهجينات بين الأنواع النباتية التى تتبع نفس الجنس ولكن نقل الجينات بواسطة التهجينات بين الأصناف النباتية التى تتبع أجناس نباتية مختلفة عادة لم تنجح لعدم نجاح الإخصاب ، أو أن الزيجوت الناتج كان غير حيوى وغير قادر على الاستمرار فى الاقسام وتكوين الجنين أو عدم تطور الإندوسبرم .

- فى الـ ٤٠ سنة الماضية تطورت طرق زراعة الأنسجة Tissue culture والتى تتلخص فى أخذ خلايا من أنسجة النبات ومعاملتها إنزيمياً لنزع الجدار الخلوى . والخلايا الخالية من الجدار الخلوى تسمى Protoplaste وتتم تنميتها على بيئة غذائية مكونة نسيجاً نباتياً (كالس Calli) وبإضافة بعض الهرمونات النباتية والتى تحفز على إعادة تشكل Redifferntiation لهذا النسيج إلى جذر وساق وأوراق أى نبات كامل.

- أمكن بواسطة الهندسة الوراثية فى عام ١٩٨٣ نقل جين من البكتريا إلى نبات الدخان وبذلك أمكن نقل الجينات بين الأنواع النباتية والتى تتبع نفس الجنس والتى لم يمكن سابقا إجراؤها بواسطة طرق التهجينات ، ويرجع الفضل إلى بعض أنواع بكتريا التربة *Agrobacterium tumefaciens* والتى تصيب عديد من نباتات ذوات الفلقتين وتسبب تورمات فى مكان الإصابة.

- هذه البكتريا تحتوى بجانب DNA الكروموسومى على بلازميد يسمى Ti-plasmid وعند إصابة البكتريا للخلايا النباتية فإن جزءاً صغيراً من Ti-plasmid ينفصل ويلتحم بالكروموسومات النباتية. هذا الجزء من البلازميد والذى يلتحم بالكروموسومات النباتية يسمى T-DNA (شكل رقم ٩٣) ، وT-DNA يحتوى على جينات تحفز على زيادة معدل انقسام الخلايا النباتية مع عدم قدرة هذه الخلايا النباتية على التشكل مما يؤدى إلى تكوين ورم وهو المسمى بالتدرن التاجى.

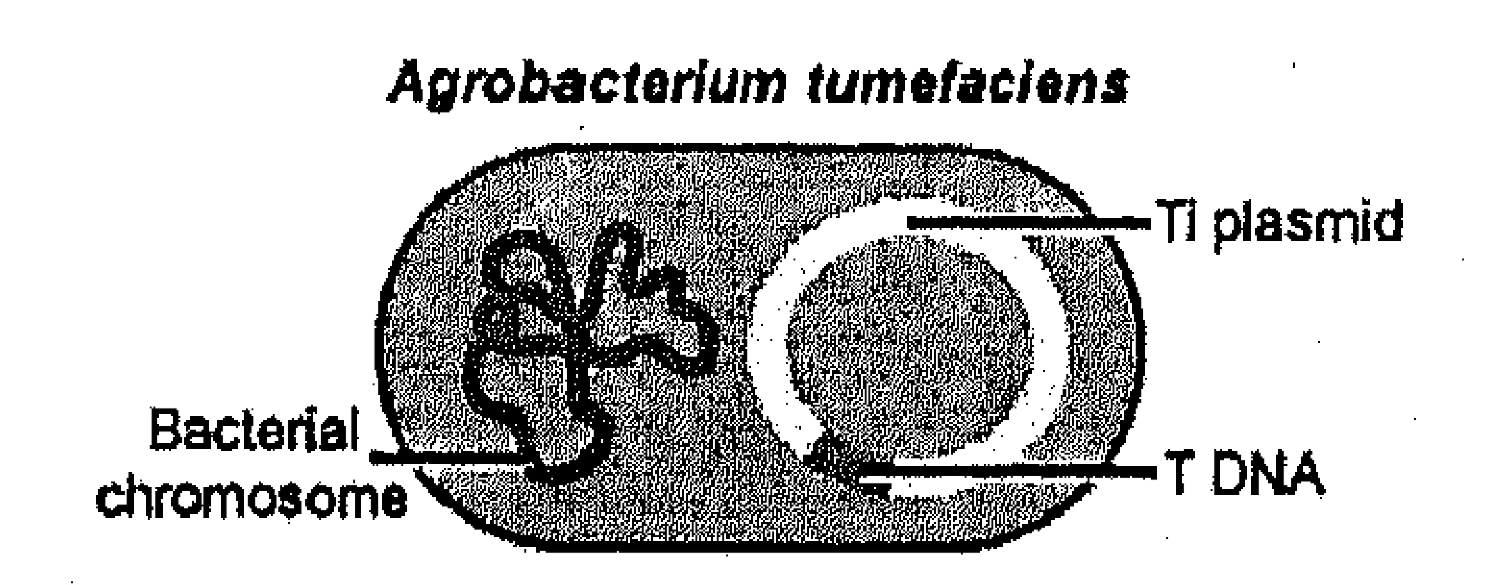


Figure . 93 . Transfer DNA on a plasmid in *Agrobacterium*

استخدم Ti-plasmid كناقل للجينات Vector إلى الخلايا النباتية نظراً لتميزه بالخاصتين التاليتين :

١- بكتريا الـ *Agrobacterium* الحاملة لهذا البلازميد تستطيع أن تصيب مدى واسع من الأنواع النباتية من ذوات الفلقتين .

٢- مقدرة قطعة الـ T-DNA والموجودة فى الـ Ti-plasmid على الالتحام داخل كروموسومات النبات وتضاعفها مع تضاعف الكروموسومات النباتية وبالتالى انتقال هذا الـ T-DNA إلى الأجيال التالية ، أى يسلك سلوك الوراثة المندلية .

وعلى ذلك فإذا لحم جين من بكتريا أو أى نبات داخل قطعة الـ T-DNA فإنه عند التحام هذه القطعة داخل الكروموسوم النباتى فإنه ينقل معه الجين الغريب وبالتالى يستطيع هذا الجين الغريب أن يشفر منتجاً البروتين داخل الخلايا النباتية .

وتتلخص طرق نقل الجينات بهذه الطريقة (شكل ٩٤) فيما يلى :

١- قطع الـ Ti-plasmid بإحدى الإنزيمات المحددة والتى تقطع فقط داخل T-DNA .

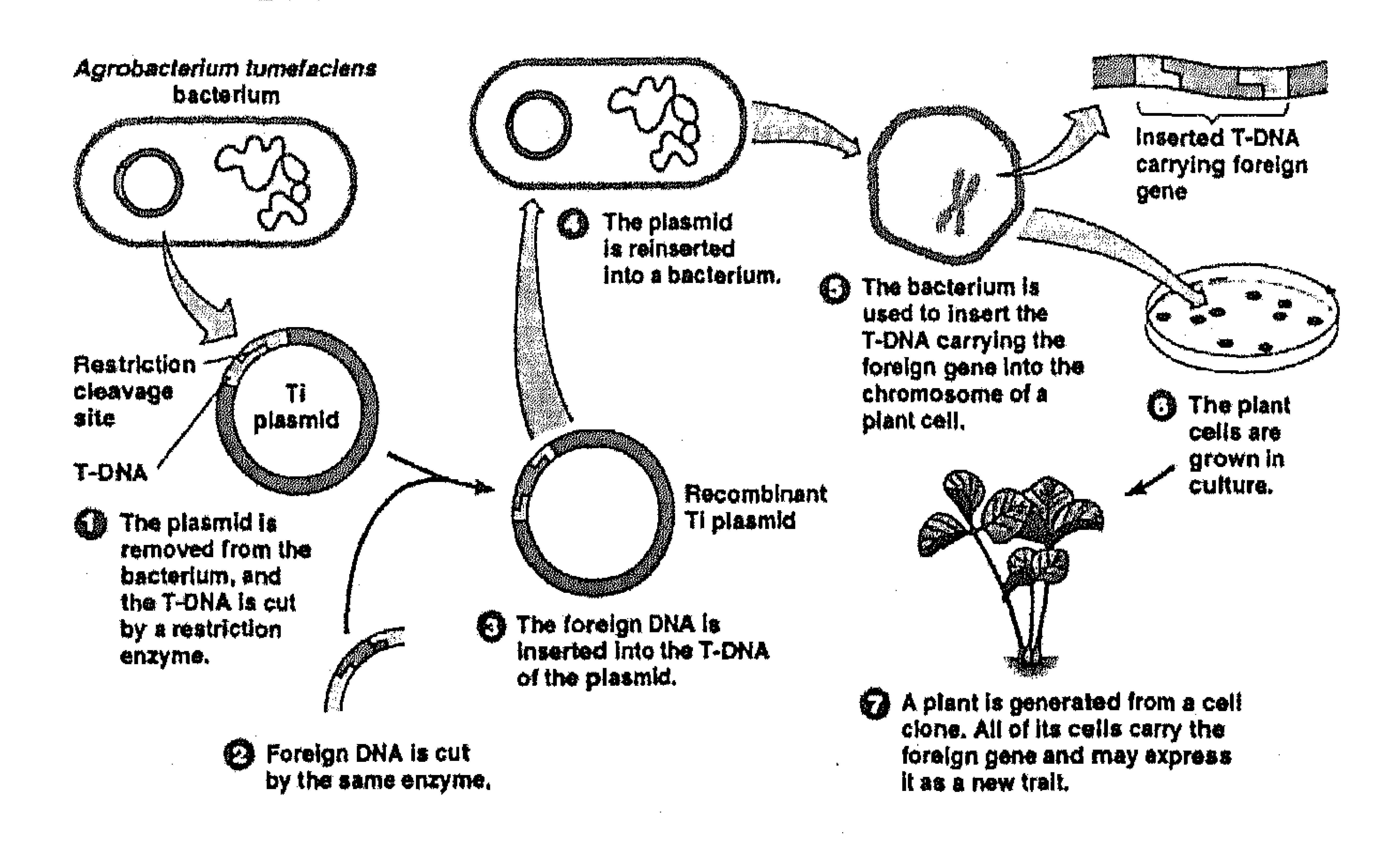
٢- لحم الجين الغريب والمراد نقله إلى النبات مع الـ Ti-plasmid المقطوع وبذلك يتكون Recombinant plasmid وهو عبارة عن Ti-plasmid مع الجين الغريب .

٣- يتم إدخال الجين الغريب داخل الـ *Agrobacterium* .

٤- إصابة الخلايا النباتية (Protoplast) والمراد نقل هذا الجين الغريب إليها بواسطة هذه الـ *Agrobacterium* والمحتوية على البلازميد الهجين .

٥- ترك هذه الخلايا المصابة على بيئة مغذية لا تحتوى على هرمونات نباتية عدة أسابيع حتى يتكون نسيج الكالس Calli .

٦-نقل نسيج الكالس إلى بيئة مغذية لا تحتوى على هرمونات مما يؤدى إلى تشكل هذا الكالس إلى نبات كامل. بفحص الـ DNA من أنوية هذه النباتات وجد أن T-DNA مع الجين الغريب يكون ملتحماً مع الـ DNA الكروموسومى للنباتات فى عدة مواقع .



شكل رقم ٩٤ . يوضح استخدام الأجروبكتيريم فى نقل الجينات إلى النبات

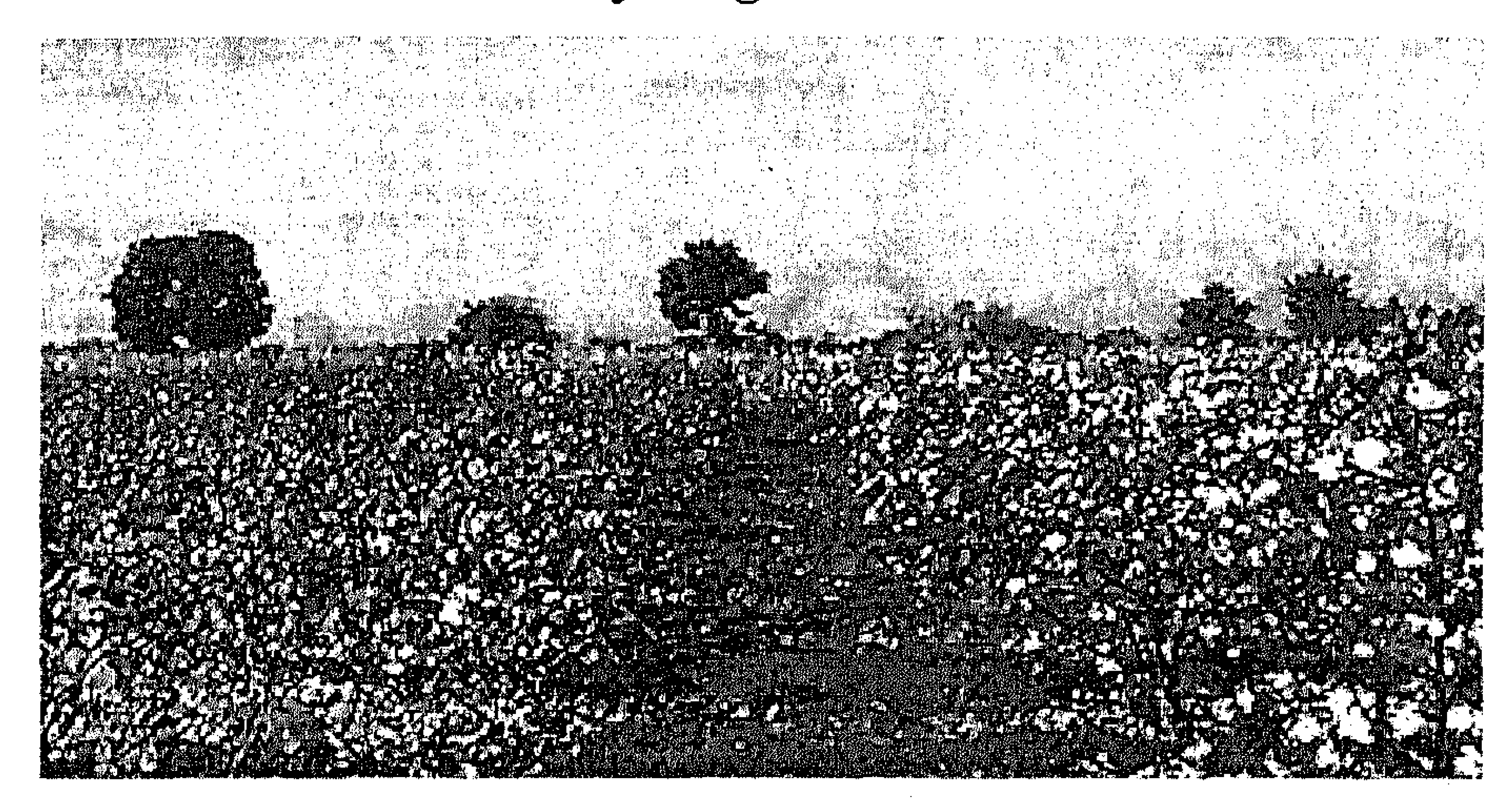
بواسطة هذه الطرق تم بالفعل نقل صفة المقاومة ضد بعض الحشرات إلى نبات الدخان والقطن وصفة المقاومة للمبيدات الحشرية إلى بعض النباتات الاقتصادية وكذلك أيضا نقلت للنباتات صفة المقاومة لبعض الفيروسات .

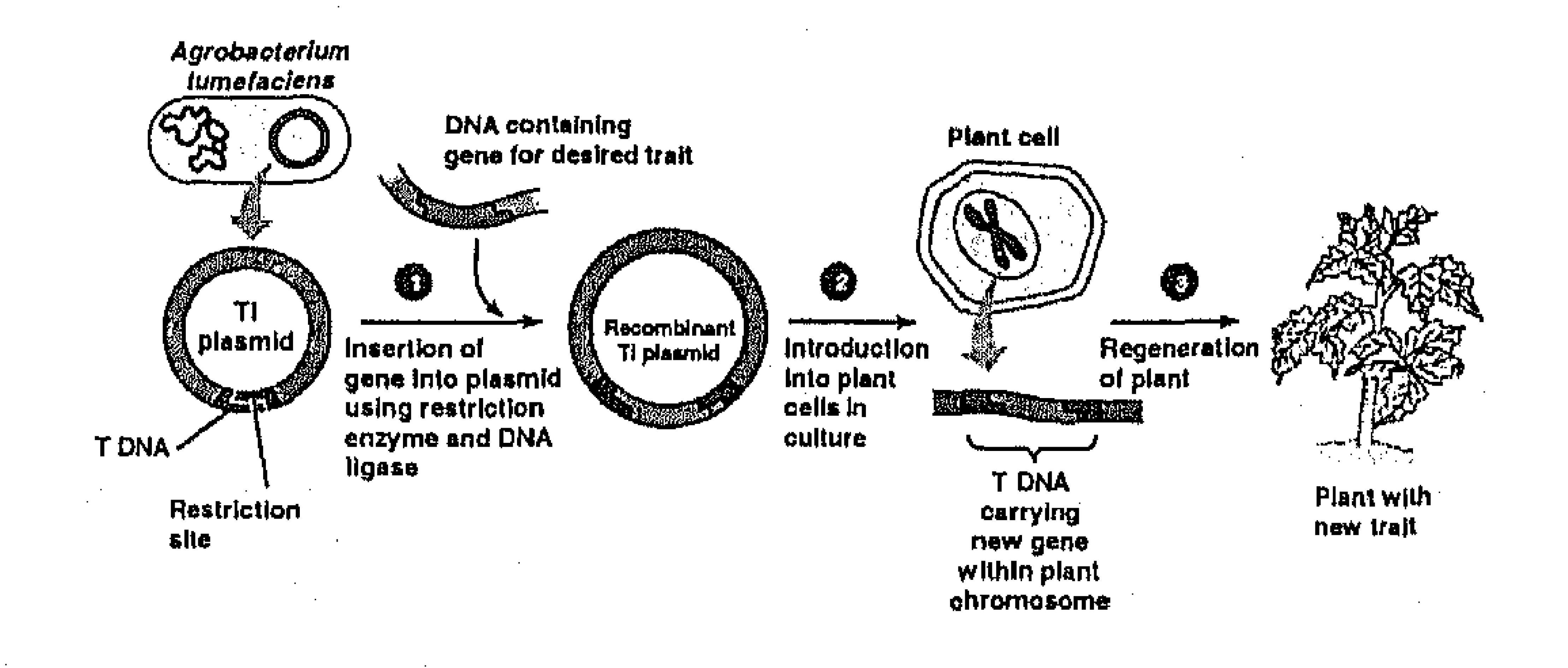
وجد أن بكتريا *Bacillus thuringiensis* تفرز مادة بروتينية سامة Toxin تؤدى إلى موت بعض الحشرات التابعة لرتبة حرشفية وغمدية الأجنحة ، وأمكن فصل هذا الجين البكتيرى الشافر للبروتين السام وتم نقله إلى خلايا نبات الدخان بواسطة طريقة Ti-plasmid مما أدى إلى أن هذا الجين البكتيرى ينتج البروتين السام داخل أوراق نبات الدخان ، وبالتالى عند تغذية اليرقات على الورقة يؤدى إلى تسممها وموتها (ملحوظة : هذا البروتين السام لا يكون له تأثير على خلايا أوراق الدخان) .

بنقل هذا الجين إلى نبات القطن (شكل رقم ٩٥ ، ٩٦ ، ٩٧) أدى إلى مقاومة النباتات لديدان اللوز ، وبهذه الطريقة لا يحتاج المزارع إلى رش المبيدات

الحشرية مما يؤدى إلى حماية صحة الإنسان والبيئة من التأثير الضار لهذه المبيدات .

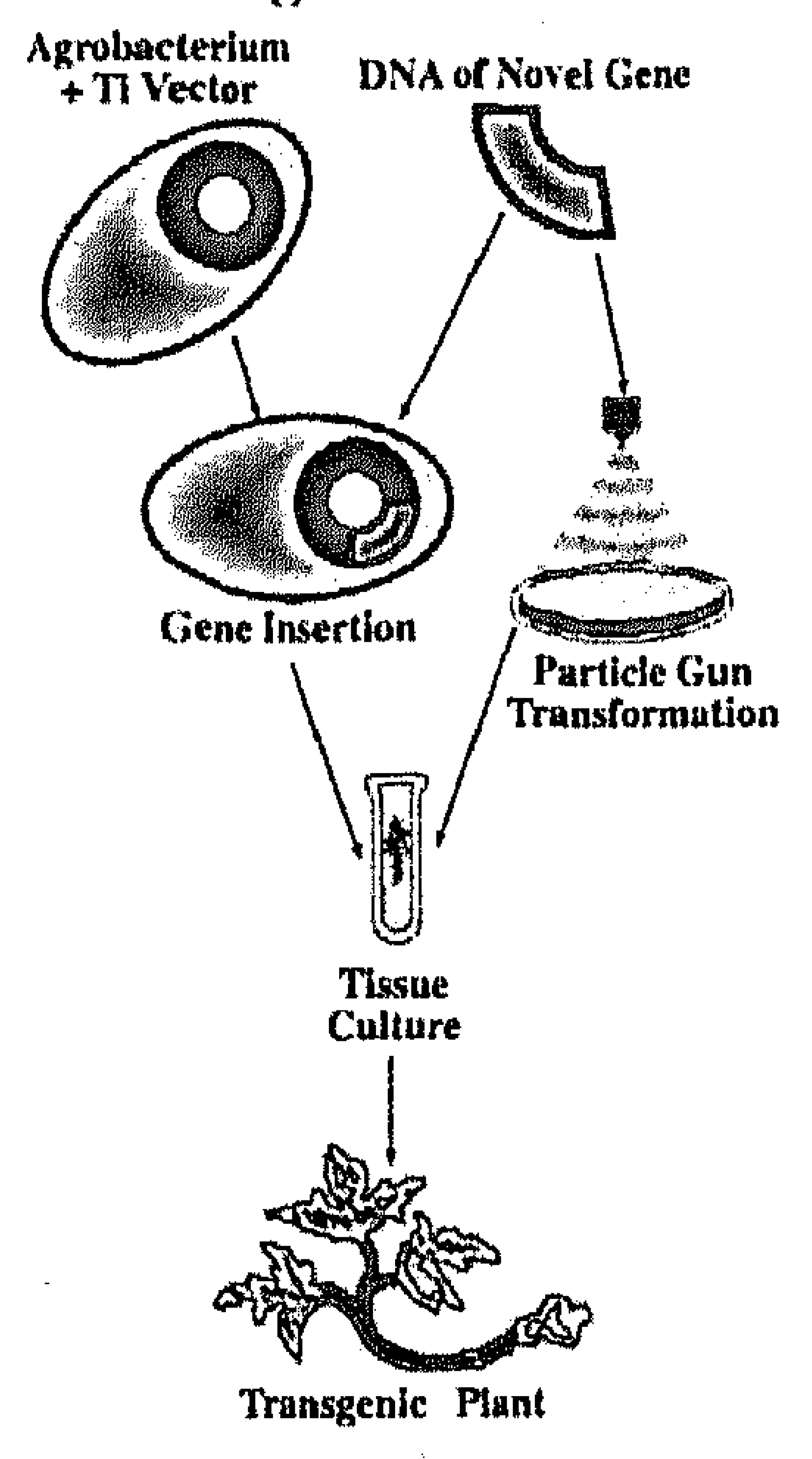
Figure 95 . Comparison of a *Bt* cotton hybrid (right) with its non-*Bt* hybrid counterpart (left) at first picking stage during a regulatory field trial in India. Three intra-hirsutum Bt cotton hybrids were approved for commercialization by the government of India in 2002.





Overview of how transgenic crops are created

شكل رقم٩٦ . يوضح كيف تخلق المحاصيل المعدلة وراثيا بجينات معينة لتحسين الصفات الإقتصادية للنباتات وفيها استخدمت الأجروبكتيريم كناقل للجينات



شكل رقم ٩٧ : يوضح إنتاج النباتات المعدلة وراثيا

تعرف الكائنات المعدلة وراثيا بأنها الكائنات الناتجة عن استخدام طرق التكنولوجيا الحيوية لتطعيم المادة الوراثية DNA ، والتى تحدث تحوراً لكائن معين بواسطة إدخال جينات خاصة بالمقاومة الحيوية إليه من كائن آخر ، ويترتب على ذلك حدوث تغيرات وراثية لم تشاهد فى الكائن الأصلى وذلك لمواجهة الإرهاب البيولوجي الناتج عن مسببات أمراض النبات ، ومن أمثلة الكائنات المعدلة وراثيا المحاصيل المقاومة للحشرات ونباتات العائلة القرعية المقاومة للفيروس ، الطماطم المقاومة لمرض الذبول المتأخر ، المحاصيل المقاومة لمبيدات الحشائش ، نباتات القطن المقاومة لمبيد Bromoxynil ، ونباتات فول الصويا المتحملة للـ Lyphosate وقد استخدمت عمليات التحور الوراثى بطرق مختلفة للمساعدة فى تصنيع الغذاء ولتحسين بعض الصفات مثل القيمة الغذائية للأطعمة ومقدرتها التخزينية ، مثل نباتات الطماطم التى تم لها إدخال جينات جديدة والذى كان بغرض حمايتها من عملية تكسير الجدار الخلوى الذى يعمل على طراوة أنسجة الثمار مما يعمل على حماية الثمار عند تخزينها لفترات طويلة . ومن أحد الأمور التى تحيط باستخدام الكائنات المحورة وراثيا هى عملية التحور الوراثى نفسها ، خاصة وأن التحور

الوراثى يرجع إلى انتقال DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن آخر يتبع جنس آخر . وقد أمكن حديثا استخدام DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن أخر يتبع يتبع جنس أخر . كما أمكن حديثا استخدام ال DNA من مصدر حيوانى أو من البكتيريا ونقله للنباتات ، ومن هنا نستطيع أن نستنتج ونتوقع المخاطر الصحية المحتملة ، وتسمى مجموعة الأطعمة التى إستخدمت فيها تقنيات التطويع الجينى بالـ Frankenfood أو الأطعمة خليعة الهندسة الوراثية .

الكائنات المعدلة وراثيا لماذا ؟؟

لقد أصبحت الآن صناعة الغذاء تتفق مع الحاجة لمواجهة المسببات المرضية بإنتاج كائنات معدلة وراثيا لتقليل تكاليف الإنتاج وخفض الحاجة للكيماويات والأسمدة والمبيدات و المعاملات الميكانيكية المستخدمة فى الزراعة والحصاد ، ولقد عملت الهندسة الوراثية على إنتاج نباتات غنية بالعناصر الغذائية ، والمثال على ذلك هو Golden rice ، وتحتوى هذه السلالات من الأرز على البيتاكاروتين كمصدر لفيتامين A والحديد . فالدول النامية والتى تعتمد على الأرز كمصدر رئيسى للغذاء هى نفسها فى الغالب الدول التى تعانى من معدلات مرتفعة من العمى والأنيميا الحادة . وإضافة الحديد وفيتامين A لغذائهم عمل على علاجهم من كل من الأنيميا الحادة والعمى على الترتيب .

اتجاهات وأهداف المقاومة الحيوية فى الدول النامية :

يوجد فى العالم حوالى ٨٠٠ مليون فرد يذهبون إلى النوم يوميا وهم جوعى بمعدة خالية من الطعام وحوالى ٤٠,٠٠٠ يموتون يوميا من الجوع نصفهم من الأطفال ، وسوف يصل هذا العدد إلى مليون بحلول عام ٢٠٢٠ ، وفى العديد من الدول النامية والتى تقدر على إعطاء طعام كاف للحياة فهو غالبا أقل من الحد الآمن . وتوجد حاليا ٦ أكاديميات دولية للعلوم فى الولايات المتحدة ، بريطانيا ، البرازيل ، الصين ، الهند ، المكسيك ، بالإضافة إلى الأكاديمية الدولية للعلوم فى العالم الثالث ، تعمل على إدخال المقاومة الحيوية فى إنتاج الغذاء من خلال الشركات والحكومات لحل مشاكل العالم النامى .

أهداف إنتاج النباتات المعدلة وراثيا لمواجهة المسببات المرضية والآفات :

تساعد التكنولوجيا الحيوية من خلال عملية التحول الوراثى للنباتات على زيادة إنتاج الغذاء ليتواكب والزيادة السكانية المضطردة فى العالم من خلال إدخال صفات جديدة خاصة بالمقاومة الحيوية للنباتات لمواجهة المسببات المرضية والآفات . حيث تساعد على تكوين صفة المقاومة فى النبات للآفات الحشرية وكذلك صفة المقاومة للأمراض وللظروف البيئية القاسية الناتجة عن الإجهادات البيئية ، كما تعمل كذلك على تحسين القيمة الغذائية للمنتج الزراعى وتعمل على تعزيز تحمل المنتج لعمليات الحصاد والتخزين . فالأنواع الجديدة من المحاصيل والمبيدات الحيوية سوف تعملان معاً على الإقلال من معدلات استخدام المبيدات الكيماوية وسوف تقلل من تكلفة الإنتاج والمقاومة للمزارع وسوف تعمل كذلك على حماية صحة الإنسان والبيئة من التلوث بفعل استخدام المبيدات الكيماوية والأسمدة ، وسوف تعمل الأبحاث فى مجال التحور الوراثى للنباتات على التحكم فى وجود الأعشاب الضارة ، ومن ثم زيادة دخل المزارع وتوفير الوقت الذى يستغرقه المزارع فى مكافحة هذه الأعشاب أو الحشائش. كما أن التكنولوجيا الحيوية سوف تعمل على زيادة محتوى بعض المنتجات الزراعية من الحديد وفيتامين أ والإقلال من التكاليف التى سوف تنفق على شراء الأدوية المحتوية على هذه العناصر الغذائية .

نباتات الذرة المعدلة وراثيّاً بجين Cry 1A (الجين الذى يقوم بإنتاج المادة البروتينية السامة فى الباسيلس ثيرونجنسز) والذى تم استخدامه فى عمل تحول وراثى لنباتات الذرة ، قد أدى إلى الإقلال من تغذية ثاقبات الساق على الأوراق بمعدل ٧٦%. كما أن نباتات القطن المعدلة وراثيّاً بجينات *Bt* قد حدث فيها إنخفاض فى الأضرار التى تصيب كل من الأزهار واللوز يقدر بحوالى ٩٤ ، ٩١% على الترتيب. كما تسبب الانخفاض فى الأضرار الناتجة عن مهاجمة الحشرات لنباتات القطن المحولة وراثيّاً إلى زيادة الإنتاج من محصول البذرة فى القطن بواقع ٣٩%. ولذلك فإنه توجد حاجة ماسة وملحة وعاجلة نحو استخدام طرق المقاومة الحيوية والتكنولوجيا الحيوية لزيادة إنتاج المحاصيل الحقلية والتى تلعب دوراً رئيسياً فى حياة وغذاء الشعوب خاصة فى الدول النامية الفقيرة التى تعتمد أساساً على الإنتاج الزراعى فى الغذاء . وبالإضافة للانخفاض فى معدل الفقد فى الإنتاج الزراعى والراجع لمهاجمة الحشرات للمحاصيل فإن عملية الإنتاج

والتوسع فى زراعة النباتات المعدلة وراثياً بجينات المكافحة للحشرات سوف تؤدى إلى ما يلى :

١- انخفاض كبير جداً فى رش المبيدات الكيماوية على النباتات لمكافحة الآفات .

٢- انخفاض معدل تعرض المزارع والكائنات غير المستهدفة من رش المبيدات من تعرضها للمبيدات الحشرية .

٣- زيادة كفاءة الوسائل الطبيعية فى المكافحة الحيوية مثل الأعداء الطبيعية للآفات.

٤- الإقلال من تركيز الأثر المتبقى للمبيدات فى الأطعمة والمنتجات الغذائية .

٥- توفير بيئة آمنة للحياه ومعيشة الشعوب .

٦- تزيد من وفرة الغذاء للشعوب .

٧- تحسن من جودة الغذاء من خلال عدم إصابته بالأمراض أو الحشرات .

٨- تحسن من القيمة الغذائية للطعام كما تحسن من صحة الإنسان وتحسن من كمية البروتين فى الغذاء .

٩- تزيد من محتوى الغذاء من الكربوهيدرات .

١٠- تزيد من الناتج المحصولي .

١١- تحدث دفاعاً بيولوجياً ضد الحشرات والأمراض التى تصيب النباتات ، الحشائش ، مبيدات الحشائش ، الإجهادات البيئية والفيروسات التى تتعرض لها النباتات وتقلل من الإنتاج .

١٢- تعمل على تصنيع فاكسينات وعقاقير صالحة للأكل .

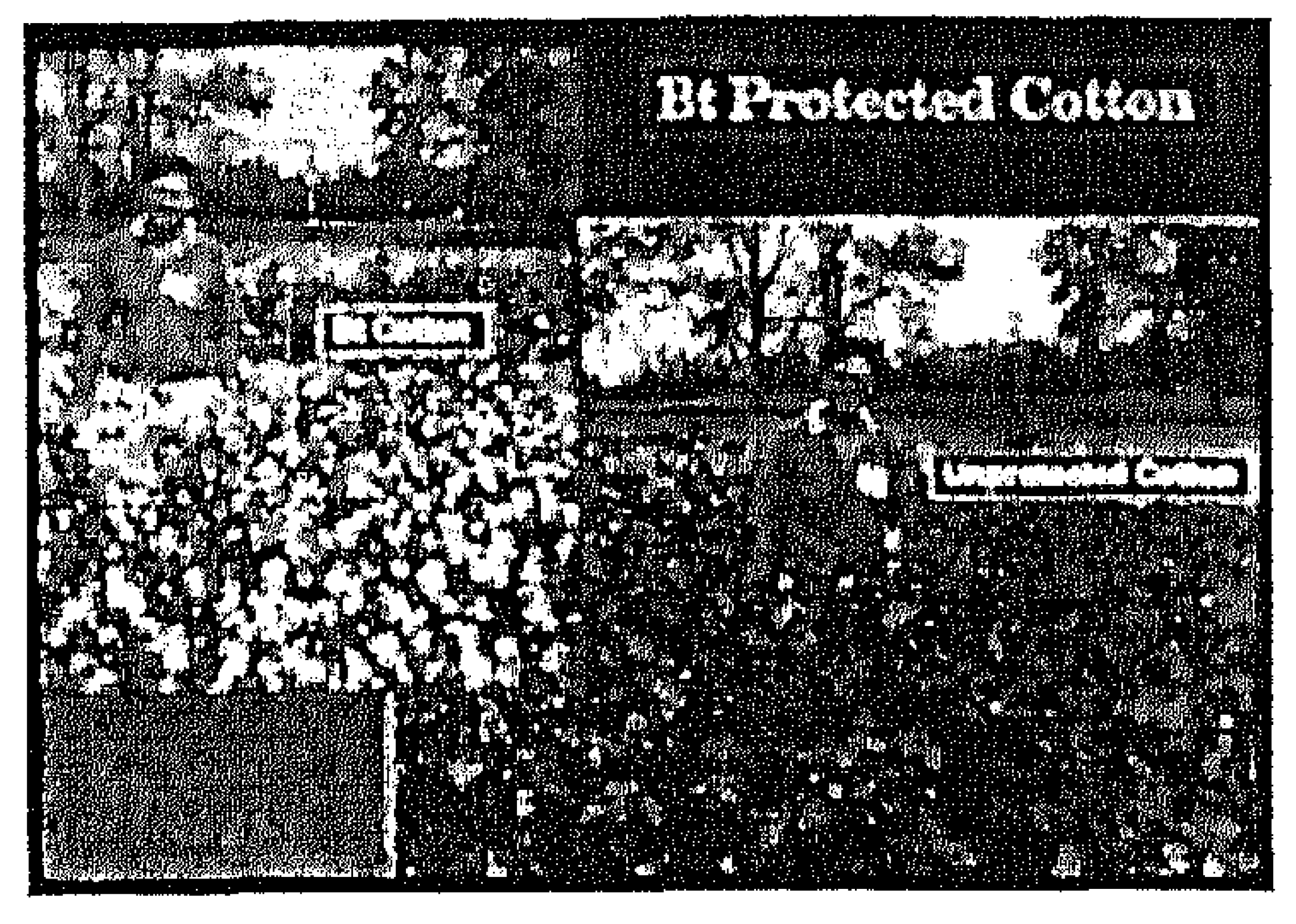
١٣- تعمل على تنقية البيئة من التلوث .

١٤- حماية البيئة .

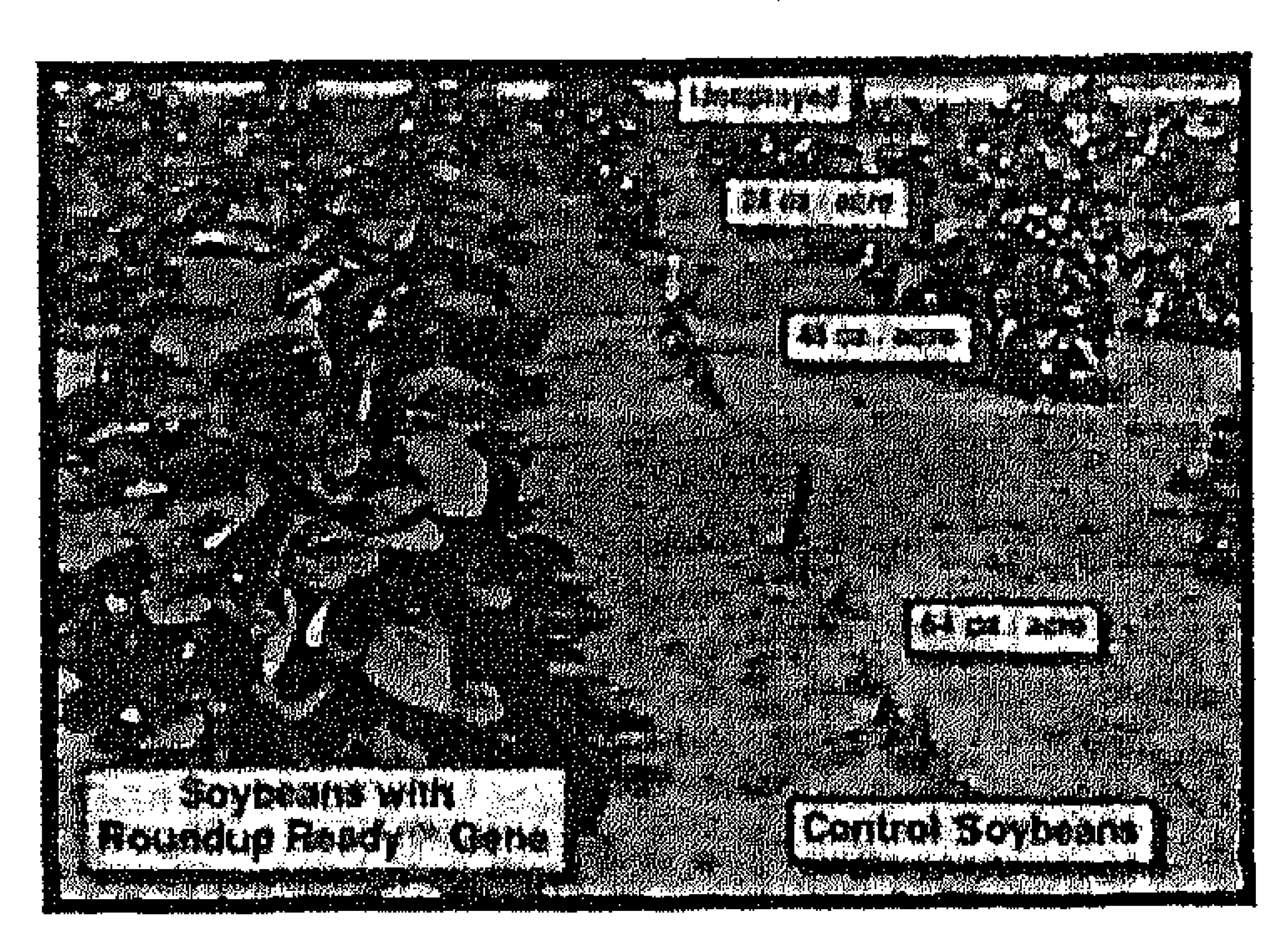
١٥- لها تأثير إيجابي على المزارع والحد من تكاليف الإنتاج .

١٦- تعد المحاصيل المعدلة وراثيا بمثابة مصانع حيوية ومصدراً للمواد الصناعية الخام .

الشكل التالي (الشكل رقم ٩٨ ، ٩٩) يوضح نباتات القطن وفـول الصـويا المعدلة وراثيا لمواجهة الأفات .



الشكل رقم ٩٨ يوضح نباتات القطن المعدلة وراثياً



الشكل رقم ٩٩ يوضح نباتات فول الصويا المعدلة وراثياً

المقاومة الحيوية للآفات باستخدام المبيد الحيوي Bt :

نظرا لما تسببه الآفات الحشرية من خسائر اقتصادية كبيرة فى إنتاجية المحاصيل والفاكهة والخضروات ؛ لذلك إستخدم المزارعون المبيدات الكيماوية لحماية محاصيلهم ، لكن الاستخدام المكثف والعشوائى لتلك المبيدات تسبب فى العديد من المشاكل لكل من الإنسان والحيوان والبيئة . ولقد وجد العلماء البديل الحـيوى المناسـب لهذه المبيدات الكيماوية متمثلا فى المقاومة الحيوية باستخدام نوع من البكـتريا يسـمى " باسيلس ثيرونجينسيس *Bacillus thuringiensis*" والتى تنتج أنواعاً من البروتينات السامة للحشرات دون أن تسبب أى أضرار على الكائنات الحية الأخرى . ويتم استخدام المخمرات ذات السعات العالية فى الإنتاج الكمى للمادة الفعالة (البروتين السام) لتلك البكتريا ، وتدخل هذه المادة الفعالة فى عمليات تصنيع المبيد الحيوى والذى يرش على أسطح النباتات لكى يؤثر على الحشرات حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة، كما يرش فى المستنقعات لمكافحة الحشرات ثنائية الأجنحة حيث تنتشر يرقات الناموس والذباب .

إن عملية استخدام النباتات المعدلة وراثياً بجينات *Bt* لمواجهة الآفات لها مميزات عديدة يترتب عليها انعدام أو ترشيد استخدام المبيدات الكيماوية ، غياب التأثيرات الضارة المتبقية لها فى التربة ، غياب تأثيراتها الضارة على الكائنات غير المستهدفة من استخدام هذه المبيدات الكيماوية، بينما عملية استخدام المبيد الحيوى *Bt* عن طريق الرش تؤدى إلى فقدان صفة الاستمرار فى البيئة كما تعمل

على حماية الأسطح النباتية فقط ، بينما لم تتأثر به حشرات الجذور وثاقبات السيقان والثمار ، ولذا فإن الوسيلة الوحيدة لمكافحة المجموعة الأخيرة من الحشرات التى تهاجم الجذور والسيقان والثمار هى عملية إنتاج نباتات محولة وراثياً بجينات *Bt* يحدث بها تعبير وإنتاج المادة البروتينية السامة فى خلايا الأنسجة النباتية ، وهذه النباتات المحورة وراثياً تعمل على توفير الطاقة والمجهود المستخدمين فى رش النباتات بالمبيد الحيوى أو بالمبيد الكيماوى ، وبهذه الطريقة تم إنتاج نباتات محولة وراثياً فى كل من البطاطس ، الذره ، القطن والتى حدث فى خلاياها تعبير لجينات *Bt* وإنتاج المادة البروتينية السامة ، الأمر الذى أدى إلى استمرار وجود المادة البروتينية السامة Bt بصفة مستمرة فى خلايا هذه النباتات خلال موسم النمو مما يؤدى إلى مكافحة الحشرات التى تهاجم هذه النباتات بصفة مستمرة وأولاً بأول. الشكل التالي (شكل رقم ١٠٠ ، ١٠١) يوضح المادة البروتينية السامة (الكريستال بروتين) الناتج عن بكتيريا الباسيلس ثيرونجنسز والذى يحدث المقاومة الحيوية ضد الهجمات الحشرية .



Figure 100 . Bipyramidal protein toxin crystals (each ca. 1) produced by the bacterium *Bacillus thuringiensis*.



Fig.101 . European corn borer larva tunneling in a maize stalk

الشكل التالي يوضح يرقة ثاقبات الذرة الأوربية على ساق نبات الذرة :

الشكل رقم (١٠٢) يوضح يرقات كيزان الذرة التى تتغذى على الكوز ، بينما الشكل رقم (١٠٣) يوضح شكل يرقة ثاقبات الذرة ، بينما الشكل رقم (١٠٤) يوضح فى اليسار الأضرار الناشئة عن ثاقبات سيقان الذرة ، وفى اليمين نباتات ذرة سليمة معدلة وراثيا بجين *Bt* والتى فيها تم البناء الوراثي لصفة المقاومة الحيوية لهذه الحشرة . مع ملاحظة أنه حتى الآن لم تتكون صفة المقاومة فى الحشرات ضد المحاصيل المعدلة وراثيا .

No insect resistance has appeared yet to transgenic '*Bt*' crops.

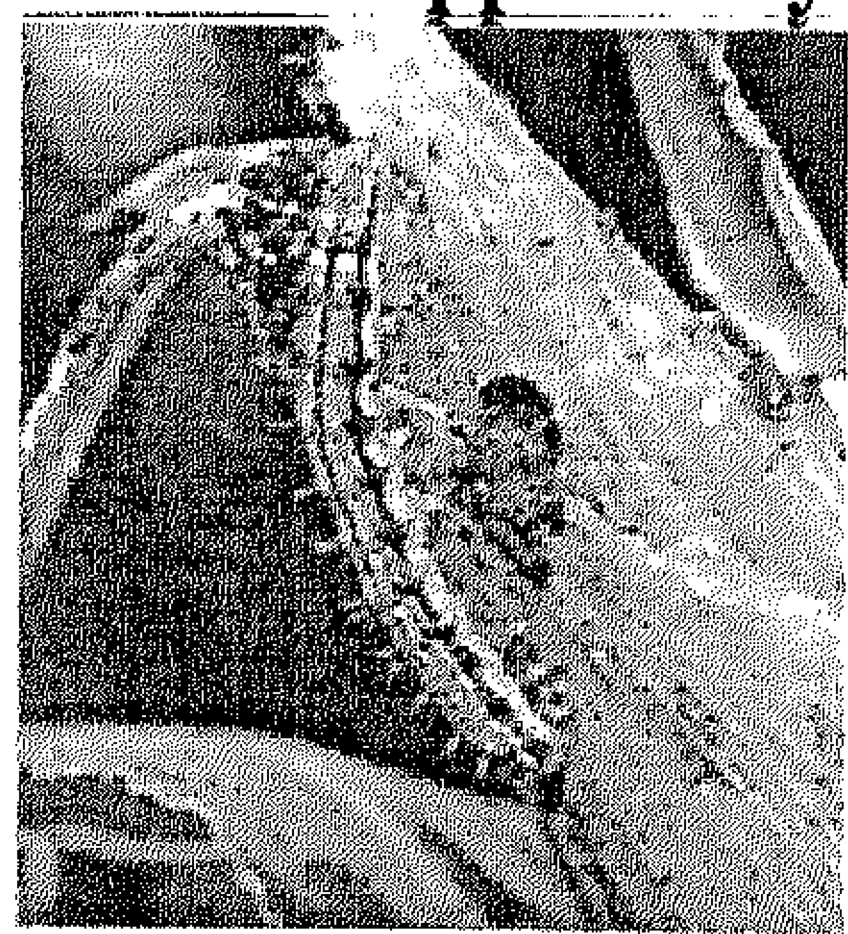


Fig. 102 . Corn earworm larva feasting on a maize ear.

شكل يرقة ثاقبات الذرة

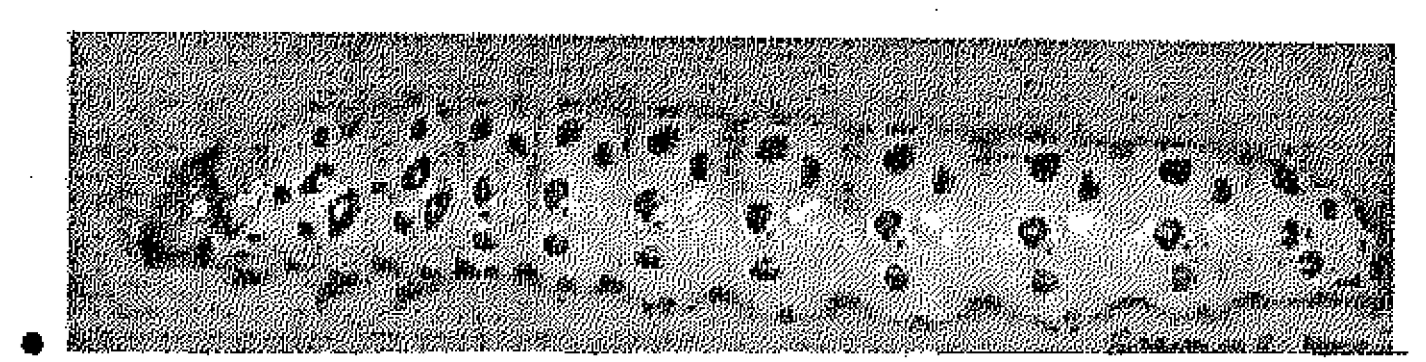


Figure 103. Southwestern corn borer larva

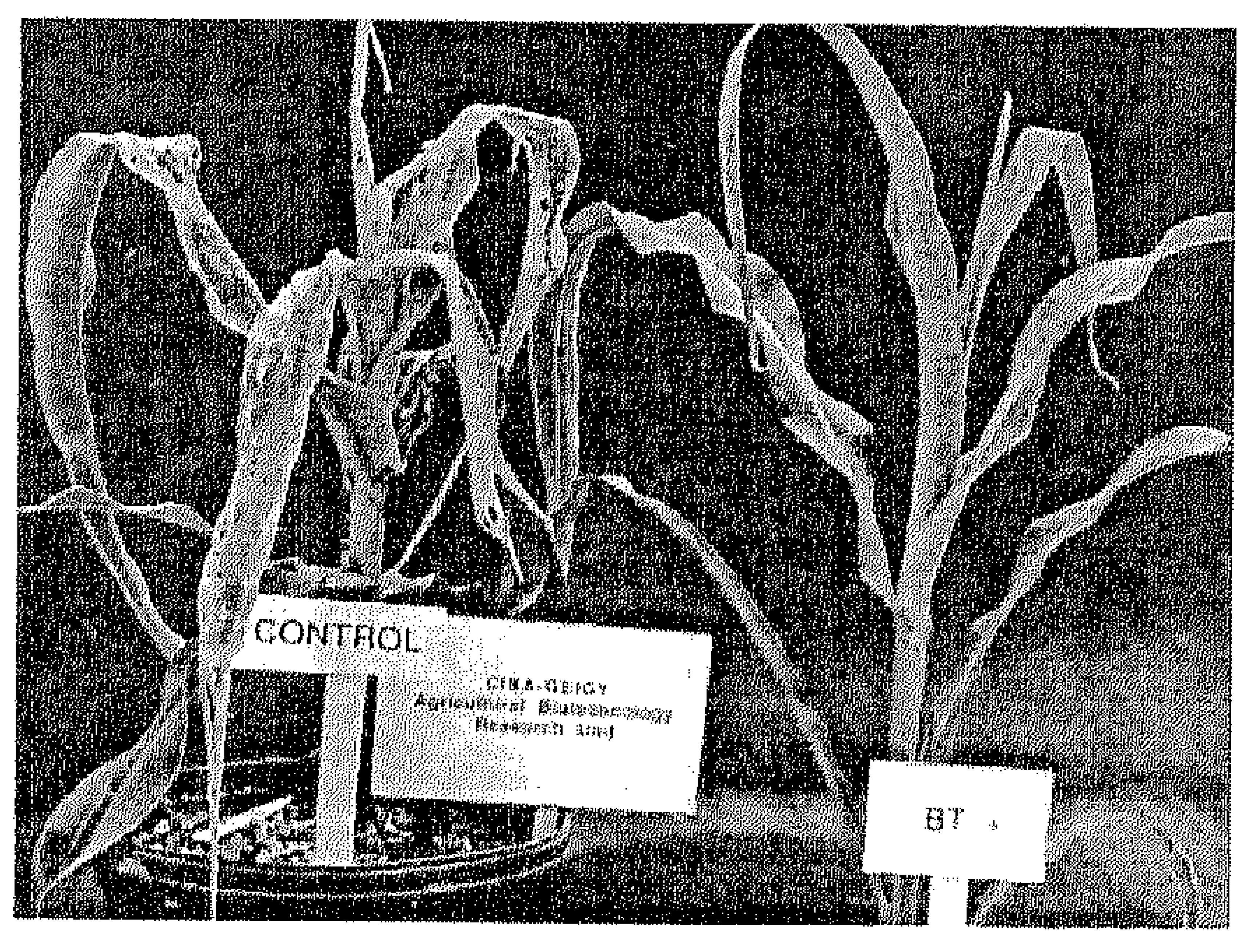


Figure 104 . LEFT – Conventional maize attacked by the European corn borer larvae. RIGHT – *Bt* maize showing builtin protection to attack by European corn borer larvae.

يرقة ثاقبات الذرة كما يوضحها الشكل (شكل رقم ١٠٥) تسير مخترقة ساق النبات وتتغذى وهى تسير فى طريقها على ساق النبات . وقد تم تسجيل معدلات *Bt* protein فى هجن الذرة المعدلة وراثيا وتبين أنها تتراوح ما بين كميات غير محسوسة (أقل من ٠,٠٠٥ ميكروجرام / جرام من النسيج النباتي) إلى ٤ ميكروجرام / جرام ، مع ملاحظة أنه على العكس من طرق المكافحة الشائعة

الاستخدام فإن الأنسجة النباتية المختلفة لا تنتج نفس المادة البروتينية السامة ، الأمر الذى تسبب فى عدم تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد هذا المبيد الحيوى .

It eats its way right through the stalk of the maize plant



Figure 105. The European corn borer (Ostrinia nubilalis) is the pest most dreaded by the maize grower;

وقد تبين أن تغذية الفئران على جرعات عالية من المادة البروتينية السامة للحشرات insecticidal proteins فى صورة نقية لم يكن لها أى تأثير سمي على الفئران .

كما تبين أيضا أن cryIA(b) gene المسئول عن تكوين المادة البروتينية السامة فى الباسيليس ثيرونجنسز *Bt* عندما تم نقله لنبات الكرنب باستخدام *Agrobacterium tumefaciens* ، فقد اتضح من النتائج أن النباتات المعدلة وراثيا والتى كانت مقاومة للكاناميسين كعلامة انتخابية هى التى تم تكاثرها . وقد اتضح من نتائج التهجينات أن الجين المسئول عن إنتاج المادة البروتينية قد حدث له اندماج فى جينوم الكرنب ، وقد حدث أيضا له نسخ mRNA expression ، وقد نتج عن ذلك التعبير الجينى نشاط مضاد للحشرات (مقاومة حيوية) فى الكرنب ضد حشرة Diamondback moth ، وقد اتضح أيضا أن الجين المنقول للكرنب والذى يعتمد فى تعبيره على جينات النباتات وحيدة الفلقة based on monocot codon قد حدث له تعبير فى النباتات ثنائية الفلقة وأحدث بها مقاومة حيوية .

الخلاصة :

سوف تقلل مقاومة العوائل النباتية لمسببات أمراض النبات وللآفات من الحاجة لاستخدام المبيدات الحشرية والفطرية فى مكافحة المسببات المرضية والآفات ، وهذا يتوافق مع بعض برامج المكافحة وخدمة البيئة . فمن المعروف أن المبيدات الحشرية والفطرية سامة جدّاً للوسائل الحيوية الطبيعية (الأعداء الطبيعية للآفات)، تسبب تلوثاً بيئيّاً ، تسبب أضراراً بالكائنات غير المستهدفة من استخدام المبيدات Non-target organisms وتسبب أضراراً شديدة بالبيئة. كما أن استخدام العوائل النباتية المقاومة للآفات سوف يعمل على انخفاض معدل الزيادة فى تعداد عشائر الحشرات فى المزارع الحقلية وسوف يعطى فرصة أكبر لعمل الأعداء الطبيعية للآفات. ولقد أوضحت الدراسات الأولية أنه لا توجد تأثيرات ضارة للنباتات المعدلة وراثياً لمواجهة المسببات المرضية والآفات على ظهور الأعداء الطبيعية للآفات .

الأسئلة :

١- اذكر التطبيقات المختلفة للهندسة الوراثية فى مكافحة مسببات الفقد فى إنتاج الغذاء وأثر ذلك على الاقتصاد العالمي ؟

٢- اشرح موضحا بالرسم طريقة نقل الجينات للنباتات ذوات الفلقتين باستخدام الأجروبكتيريم ؟

٣- اذكر لماذا يستخدم Ti- plasmid كناقل للجينات إلى الخلايا النباتية ؟

٤- ما هى الكائنات المعدلة وراثيا وما هى Frankenfood ؟

٥- اذكر أهداف المقاومة الحيوية في الدول النامية لمواجهة المسببات المرضية والأفات ؟

٦- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- يستخدم جين الشيتينيز فى دعم صفة المقاومة الحيوية فى النبات للفطريات والحشرات ؟

ب- تم نقل جين Xa21 gene إلى سلالة الأرز الصينى باستخدام قــاذف الجينــات لمقاومة مرض اللفحة البكتيرية فى الأرز ؟

ج- تجري عمليات التحور الوراثي للنباتات بغرض المساعدة فى تصــنيع الغــذاء ولتحسين القيمة الغذائية للأطعمة ومقدرتها التخزينية ؟

د- الجينات الجديدة التى أدخلت لنباتات الطماطم لتحميها من عملية تكسير الجــدار الخلوي ساهمت فى تخزين الثمار لفترات طويلة ؟

هـ- ترجع محاذير ومخاطر الأطعمة المعدلة وراثيا إلى إنتقال DNA من كــائن يتبع جنساً معيناً لكائن آخر يتبع جنساً آخر ؟

و- نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجين Cry 1A حدث بها انخفاض فى تغذية ثاقبات الساق على الأوراق بمعدل ٧٦% ؟

ل- نباتات القطن المعدلة وراثيا بجينات *Bt* حدث بها انخفاض فى الأضرار التــى تصيب الأزهار واللوز بحوالي ٩٤ ، ٩١ % على الترتيب ؟

الفصل الثاني

القضاء على تواصل الأجيال النباتية Terminator technology

الأهـداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يستوعب الدور الذى قامت به شركة Delta & Pine Company بالتعاون مع وزارة الزراعة الأمريكية في تكوين نظام جديد يحدد الوقت الذى يحدث فيه تعبير وظيفى للجين في النباتات المعدلة وراثيا وذلك بتحولها من حالة العمل إلى حالة التوقف عن العمل عند الرغبة فى ذلك لحماية الملكية الفكرية لمنتجات الهندسة الوراثية بما يجبر المزارعين على شراء بذور جديدة من التجار كل عام .

٢- يحذر من أن هذه التكنولوجيا Terminator technology يمكن أن تؤدى إلى انتشار صفة العقم فى نباتات أخرى .

٣- يتعرف على الخطوات المتبعة فى تكنولوجيا وقف تواصل الأجيال النباتية فى النباتات المعدلة وراثيا .

٤- توضيح طريقة عمل Terminator genes فى وجود وفي غياب المحفز الكيميائي التتراسيكلين .

٥- توعية المزارعين بخطورة Terminator genes فى أن إنزيمات Recombinase ، والإنزيمات المشابهة ربما تكون أكثر خطورة لأنها تسبب تراكيب وراثية جديدة فى مواقع غير متخصصة مما يتسبب فى تكوين تراكيب وراثية متسلقة ، خاصة وأن الجينات المميتة والمسببة لموت الأجنة فى البذور وكذلك الجينات المتعلقة بها تعتبر ضارة بالخلايا بما فى ذلك خلايا الثدييات ، فبعض هذه الجينات الضارة يمكن أن تنتشر من خلال حبوب اللقاح محدثة عقماً ذكرياً فى النباتات نتيجة لهذه التراكيب الجينية وبالضرورة قد تسبب عقماً امياً فى النباتات .

٦- يستوعب تكنولوجيا إنهاء حياة النباتات المعدلة وراثيا على أساس أنها صديقة للبيئة Environmentally friendly وذلك لأنها تبطيء من انتشار المحاصيل المهندسة وراثيا ، وبأنه يمكن أن يؤدى انتشار الجينات الخاصة بتحمل مبيدات الحشائش وتلك المقاومة للحشرات عن طريق حبوب اللقاح أو البذور لمحاصيل قريبة وراثيا فيؤدى ذلك إلى تكوين أعشاب متفوقة .

٧- يفهم تكنولوجيا عمّل الجينات الشيطانية بأنها هى عبارة عن محصلة أعمال الهندسة الوراثية لجعل بذور النباتات عقيمة ولا يمكن زراعتها فى العام التالى لكى لا يتم تواصل الأجيال النباتية .

٨- يستوعب بأن هذه التكنولوجيا هدفها الأساسي هو حماية منتجات الشركات الكبرى فى إنتاج البذور ، وقد امتلكت شركات إنتاج البذور الكبرى هذه التكنولوجيا بالتعاون مع الحكومة الأمريكية ، وذلك للتحكم فى إنتاج البذور من المصدر مما يجعل الإنسان لا يستطيع إنتاج غذاءه من البذور التى قام بتخزينها فى العام الماضى بسبب أن معظم الجينات الضارة قد تم تركيبها فى هذه النباتات التى أصبحت تسمى بالنباتات المنتحرة التى تحطم نفسها بنفسها بإنتاجها لبذور عقيمة من خلال هذه التكنولوجيا ، وبذلك تسمى هذه النباتات نباتات منتحرة Terminator crops .

مقدمة :

مع بداية عام ١٩٩٨ عملت شركة Delta & Pine Company بالتعاون مع وزارة الزراعة الأمريكية على تكوين نظام جديد يحدد الوقت الذى يحدث فيه تعبير وظيفى للجين وكيفية حدوث تعبير للجينات التى استخدمت فى التحور الوراثى للنباتات ، وذلك بتحولها من حالة العمل إلى حالة التوقف عن العمل عند الرغبة فى ذلك . وتعد إحدى التطبيقات المقترحة فى هذه التكنولوجيا هى كيفية تحول الجين المميت للعمل أثناء مرحلة تكوين البذور حيث ينمو النبات عادى تماما ولكن لا يكون قادرا على إنتاج بذور الجيل التالى .

فلقد وقع المزارعون الذين يقومون بشراء وزراعة المحاصيل المحورة وراثيا بالموافقة على عدم زراعة هذه النباتات فى الأعوام التالية من البذور المخزنة لديهم والمتحصل عليها من نباتات مهندسة وراثيا ولكن عليهم أن يقوموا باستبدال هذه البذور بشراء بذور جديدة من التجار كل عام . وبذلك فإن إدخال هذه التكنولوجيا

الجديدة لدى شركات إنتاج البذور بطرق التكنولوجيا الحيوية فى مجـال الزراعـة أصبحت علامات بارزة فى المحاصيل المهندسة وراثيا لمنع المزارعين من الغـش والخداع Cheating بالعمل على كسر موافقتهم وقيامهم بتخزين البذور بأى طريقة. ولهذا السبب فإن إستراتيجية قتـل البـذور The seed – killing strategy سـميت مؤخرا بالـ Genetic use restriction technology or GURT (الاستخدام الـوراثى لتكنولوجيا القطع) . إن استخدام تكنولوجيـا إنهـاء حيـاة النبـات Terminator technology المقصود منها هو المزارع الصغير الذى يعتمد على تخزين البـذور لزراعتها فى العام التالى ولا يقدم على شراء بذور كل عام ، وذلك مع التحذير من أن هذه التكنولوجيا يمكن أن تؤدى إلى انتشار صفة العقم فى نباتات أخـرى . إن هذه التكنولوجيا المسماه GURT كما حددتها براءة الاختـراع لشـركة Delta & Pine Company لا زالت إسـتراتيجية نظريـة Is still a hypothetical strategy وحتى اليوم لم يتم هندسة النباتات بها بأى طريقة فى العالم على مستوى المحاصيل المنتشرة والمعروفة . وتعتمد هذه الشركة فى الوقت الحالى علـى إدخـال هـذه التكنولوجيا للاستخدام مع نباتات القطن .

ترتب على تكنولوجيا عمليات التطويع الجينى للنباتات المعدلة وراثيا بجينات معينة لصفات اقتصادية مرغوبة ؛ أن تطورت هذه التكنولوجيا باسـتخدام جينـات أخرى تعمل على إنهاء حياة النبات وعدم تواصل الأجيال النباتية من خـلال قتـل البذور بطرق بيوكيميائية خاصة باستخدام تكنولوجيا التطويع الجينى وهذا هو مـا يعرف بنظام Technology protection system وتستخدم هذه التكنولوجيا بواسـطة شركات البذور المنتجة للنباتات المعدلة وراثيا بغرض منع المزارعين من تخـزين البذور لزراعتها فيما بعد ، وتعمل هذه التكنولوجيا على قتل جنين البذرة فقط دون المساس بالمكونات الأخرى الهامة فى البذور مثل الزيوت والدهون .

كيفية عمل تكنولوجيا وقف تواصل الأجيال النباتية فى النباتات المحورة وراثيا :

يمكن استخدام هذه التكنولوجيا بثلاث طرق ولكنها على العموم تتضمن ثلاث خطوات :

١- إضافة Terminator genes للمحاصيل .

٢-تحدد شركات إنتاج البذور عملية Terminator قبل بيع البذور عن طريق إضافة المحفز Inducer وهو مادة كيميائية مناسبة .

٣-يقوم المزارع بزراعة البذور وتنمو النباتات وتصل لمرحلة النضج والحصاد ولكن تكون بذورها عقيمة وهى ما تسمى بالنباتات المنتحرة بطرق كيموحيوية وراثية بسبب موت أجنة البذور .

يأتى هذا الدور لهذه الجينات متأخرا جدا فى أثناء عملية تكوين البذور ، حيث تعمل هذه الجينات Terminator genes بطريقة خاصة تحت تأثير المحفز الكيميائى الذى يجعل هذه الجينات تنتج مواد سامة تعمل بدورها على قتل الجنين والذى يعتبر جزءاً من مكونات البذور الناضجة .

تقوم شركات البذور بمعاملة البذور بمادة كيميائية محفزة - Chemical inducer ، ربما تكون هى التتراسيكلين والتى تعمل على بدء جينات انتحار النباتات Terminator gene فى التفاعل لآداء تعبيرها الوظيفى و حيث توجد عدة طرق تغطى بكفاءة كيفية قيام هذه الجينات بالتفاعل وما يلى هى طريقة من هذه الطرق لتوضيح كيف تعمل هذه الجينات :

أولا : الجينات الانتحارية Terminator gene فى غياب المحفز الكيميائى

الجين الأول :

Gene 1 (Repressor gene) :

وفى هذه الحالة يقوم هذا الجين بإنتاج البروتين الكابت Repressor protein .

الجين الثانى :

(Recombinase gene) :

ويتم التحكم فى عمل هذا الجين بواسطة المحفز أو المنشيء Promoter ، ولقد قام العلماء بوضع شظية من DNA بين جينين هما Promotor وRecombinase وهى تعد موقعاً يرتبط به الـ Repressor وهو البروتين الناتج عن الجين الأول وهو Repressor gene . وفى غياب المحفز الكيميائى فإن الـ Repressor يرتبط بشظية DNA الملحومة بين Recombinase , promoter

genes وبالتالى لا يستطيع النبات أن ينتج Recombinase protein وهــو الإنــزيم الذى يعمل على قص DNA إلى قطع صغيرة .

الجين الثالث :

وهذا الجين هو الذى يقوم بإنتاج مواد بروتينية سامة (Toxin gene) تعمــل على قتل الأجنة. ويتم التحكم فى عمله مؤخراً بواسطة جين محفــز Is controlled by a late promoter حيث ينشط هذا الجين فقط فى أثناء المراحــل الأخيــرة مــن تكوين البذور . ولقد قام العلماء بلحم قطعــة مــن DNA بــين Late promoter و Toxin gen سميت هذه القطعة بالــ Blocker وهى التى تجعــل للــ Promoter المقدرة على تحول الجين للعمل .

ويتم العمل هنا على مستوى الجين بأنه فى غياب المحفز الكيمــاوى Inducer فإن جين Recombinase لا يقوم بإنتاج إنزيم Recombinase الذى يقــوم بقطــع القافل الوراثى الــ Blocker ، حيث انه بوجود القافل الوراثى فى مكانه فإن المادة البروتينية السامة التى تقوم بقتل الجنين لا تنتج ، وبذلك فإنه بدون معاملة البــذور بهذه المواد الكيماوية فإن شركات البذور تستطيع أن تنتج البذور الحية التى تستخدم فى الزراعة عاماً بعد أخر .

أما بالنسبة للنظام الثانى والذى فيه تكون Terminator genes تحت تأثير المحفز الكيميائى Inducer فإنه يحدث الآتى :

١- **الجين الأول وهو جين** Repressor : يقوم هذا الجين بإنتــاج الــ Repressor protein

٢- **أما بالنسبة للجين الثانى وهو جين** Recombinase : فإن المحفــز الكيميــائى Inducer يتداخل مع البروتين الكابت (ال Repressor protein) ويرتبط بالموقع الذى يسمح للجين الثانى بإنتاج إنزيم Recombinase .

٣- **أما بالنسبة للجين الثالث** وهو : المنتج للسموم فإن إنزيم Recombinase الذى أنتجه الجين الثانى يقوم بقطع القافل الوراثى Blocker ممــا يســمح للمحفــز النهائى أن يقوم بفتح النظام ليقوم الجين المنتج للمواد البروتينية السامة Toxin gene بإنتاجها مؤخرا فى نهاية الموسم. ويمكن توضيح هذا النظام كمــا يلــي (شكل رقم ١٠٦) :

Promoter (LP) ------ Bloker ------ Toxin gene

LP – Toxin gene

↓ ↓

Toxin Bloker

وهو الذى يتم إنتاجه ويتم قطع هذا القافل بواسطة

ويقوم بقتل الأجنة قبل نضج إنزيم Recombinase

البذور والحصاد

شكل رقم ١٠٦ . يوضح كيف تعمل الـ Terminator genes

وبذلك فإنه يمكن القول بأن وجود القافل الوراثى يمنع من إنتاج المادة البروتينية السامة التى تعمل على قتل الجنين بينما عدم وجوده يؤدى إلى إنتاجها وموت الأجنة وإنتاج بذور منتحرة وراثيا بطرق كيموحيوية تؤدى إلى موت الجنين، وأن معاملة شركات إنتاج البذور لمنتجات الهندسة الوراثية من البذور بالمحفز الكيميائى المعين ، سوف يترتب عليه إنتاج بذور عقيمة من النباتات ، بينما عدم معاملة البذور بهذا المحفز الكيماوى سوف يترتب علية إنتاج بذور خصبة .

تكنولوجيا عمل جينات إنهاء حياة النبات :

Terminator Technology :

يتمثل عمل الجينات الشيطانية بجعل بذور النباتات عقيمة ولا تستطيع الإنبات، ففى مارس عام ١٩٩٨ تم تدعيم وزارة الزراعة الأمريكية وشركات إنتاج البذور Mississippi seed company ، Delta and pine land company بتكنيك ذي كفاءة يجعل من شأنه البذور المنتجة عقيمة فى معظم المحاصيل الزراعية ، وهذا هو المتوقع أن تتم أقلمة التكنولوجيا بواسطة شركات إنتاج البذور الكبرى والتى كانت تنظر وتأمل على مدار سنوات عديدة إلى طرق تمنع المزارع من إعادة دورة حياة النبات بالبذور المنتجة منه مما يمنع من تواصل الأجيال النباتية . وبذلك استطاعت وزارة الزراعة الأمريكية أن تحمى منتجاتها فورا من النباتات المحورة وراثيا

بجعلها تنتج بذوراً عقيمة ليس لها القدرة على الإنبات مما يضطر بالمزارع إلى شراء البذور كل عام ، مما يعمل بدوره على حماية الملكية الفكرية لهذه التكنولوجيا بطرق كيموحيوية جزيئية .

وبذلك فإن تكنولوجيا الجينات الشيطانية هى القيام بمنع تواصل الأجيال وهى عبارة عن محصلة أعمال الهندسة الوراثية لتجعل بذور النباتات عقيمة لا يمكن زراعتها فى العام التالى لكى لا يتم تواصل الأجيال النباتية . وقد امتلكت شركات إنتاج البذور الكبرى هذه التكنولوجيا بالتعاون مع الحكومة الأمريكية وذلك للتحكم فى إنتاج البذور من المصدر مما يجعل بدوره الإنسان لا يستطيع إنتاج غذاءه من البذور التى قام بتخزينها فى العام الماضى حيث أدخلت معظم الجينات الضارة التى تم تركيبها فى هذه النباتات التى أصبحت تسمى بالنباتات المنتحرة التى تحطم نفسها بنفسها بإنتاجها لبذور عقيمة من خلال هذه التكنولوجيا ، وبذلك تسمى هذه النباتات نباتات منتحرة Terminator crops .

خطورة تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة :

تتمثل هذه الخطورة فى أن إنزيمات Recombinase والإنزيمات المشابهة ربما تكون أكثر خطورة ؛ لأنها تسبب تراكيب وراثية جديدة فى مواقع غير متخصصة مما يتسبب فى تكوين تراكيب وراثية متسلقة ، وهو ما يسمى Terminator recombinase does scramble genomes ، وبذلك فالجينات المميتة والمسببة لموت الأجنة فى البذور وكذلك الجينات المتعلقة بها تعتبر ضارة بالخلايا بما فى ذلك خلايا الثدييات ، فبعض هذه الجينات الضارة يمكن أن تنتشر من خلال حبوب اللقاح محدثة عقم ذكرى فى النباتات نتيجة لهذه التراكيب الجينية وبالضرورة قد تسبب عقم أمى فى النباتات . فعملية إنتشار الجينات وكذلك التراكيب الوراثية فى النباتات المحورة وراثيا بجينات معينة ليس بالضرورة أن يتم من خلال التلقيح المفتوح ولكن يمكن أن يتم عن طريق النقل الأفقى للجينات لأنواع غير قريبة من الأنواع التى تحتوى على هذه التراكيب الوراثية وهذه العملية لا يمكن التحكم فيها بالتالى . فعدم ثبات هذه التراكيب المحورة وراثيا على العموم وما يتعلق بها وعلى الأخص التراكيب الوراثية الانتحارية التى تودى بحيوية الأجنة تزداد بسبب النقل الأفقى للجينات Horizontal gene transfer واستحداث التوافيق الوراثية . وتعتبر عملية النقل الأفقى للجينات واستحداث التوافيق الوراثية واحدة من الطرق الأساسية

المتولدة عن الفيروسات والبكتيريا المسببة للأمراض والتى تعمل على نشر صفات المقاومة للمضادات الحيوية والعقاقير والتى بدورها تجعل الأمراض غير قابلة للعلاج . وعلى العموم فإن المخاطر الشديدة من تكنولوجيا تكوين البذور المنتحرة فى النباتات يجب أن تتوقف كما يجب التخلص من كل هذه المحاصيل التى تنهى حياتها بهذه الطريقة الشيطانية .

التأثيرات المتتابعة لإدخال صفات المقاومة الحيوية فى مجال الزراعة وإنتاج الغذاء :

تعتبر تفاعلات الحساسية الناتجة عن تناول الأغذية المحورة وراثيا هى من أكثر التأثيرات الصحية المتعلقة بتناول هذه المنتجات ، وتسبب البروتينات الخاصة فى كل من اللبن والبيض ، القمح ، السمك ، الفول السودانى ، فول الصويا أكثر من ٩٠% من حالات الحساسية الناتجة عن تناول الغذاء . فإذا تم حقن واحد من هذه البروتينات من هذه الأنواع الغذائية داخل الغذاء الذى لا يحتوى عادة على هذا البروتين فإن الأشخاص التى عندها حساسية لهذه الأنتيجينات سوف لا تتقبل عملية هضم هذه الأطعمة وسوف تحدث بهم تأثيرات صحية غير مرغوبة ، وقد عملت منظمة FDA على وضع مقاييس يلزم الأمر اتباعها عند إنتاج الأطعمة المهندسة وراثيا وهذا الدليل العلمى هو ألا يتم إدخال مواد تتعلق بالحساسية فى منتجات الهندسة الوراثية من الأطعمة المختلفة ، وإذا لم يتم اتباع هذا الدليل فإن الأمر يتطلب أن تقوم منظمة FDA بوضع ملصق على هذا المنتج لإنذار المستهلك من احتمالات المشاكل الصحية الناتجة عن استخدامه . و تعد تأثيرات الكائنات المحورة وراثيا على أنظمة الحياة على الأرض غير معروفة حتى الآن ، ولا توجد حتى الآن إزاء ذلك دراسات على المدى البعيد عن تأثيراتها الصحية للإنسان والحيوان والنظم الحية الأخرى ، وسوف نتناول من تلك التأثيرات ما يلى :

١- الحساسية :

ربما يتسبب التعرض لتلك المواد البروتينية الجديدة أو للبروتينات غير المعروفة فى إحداث تفاعلات الحساسية لدى بعض المستهلكين لها ، فقد تتسبب عملية نقل المادة الوراثية أو إحداث الطفرات فيها إلى إحداث حساسية من أنواع جديدة لا نستطيع تحديدها أو التعرف عليها ، ويعرف هذا التأثير بالـ Antiidiotope allergen . ويكمن فى الأطعمة المهندسة وراثيا وحالات الحساسية الناتجة عنها أنه

عندما يتكون الجسم المضاد ضد الأنتيجن المعروف بالـ Allergen فإنه يتكون جسم مضاد ضد الجسم المضاد المعروف بالـ Antiidiotope . وتحتوى معظم المحاصيل المهندسة وراثيا على جينات لتحمل المضادات الحيوية والتى تنتج إنزيمات مضادة للمضادات الحيوية التى تستخدم فى علاج الحساسية . والإنزيمات المضادة المضادات الحيوية هى بدورها مسببة للحساسية . وعلى ذلك فإن معظم المحاصيل المهندسة وراثيا سوف تكون مسببة للحساسية للأشخاص الذين لديهم حساسية للمضادات الحيوية .

٢- المقاومة للمضادات الحيوية :

تكمن خطورة استخدام الجينات المقاومة للمضادات الحيوية كعلامات انتخابية فى نقل صفة المقاومة للمضادات الحيوية للإنسان والبيئة بوجه عام وفى إبعاد كفاءة تأثير المضادات الحيوية فى الإنسان . والآن تحتوى أكثر من ٦٠% من الأطعمة التى نتناولها على مشتقات مهندسة وراثيا ، وهذه تتضمن أغذية الأطفال ، الصودا ، شيبسى الذرة ، الكيك ، وكل الأغذية التركيبية للأطفال مثل الصويا واللبن والتى تحتوى بصفة أساسية على مشتقات معدلة وراثيا .

إن الهندسة الوراثية فى مجال الزراعة سوف تعمل على تلبية الحاجة الملحة لإنتاج مبيدات حشائش أكثر سمية لمكافحة الأعشاب المتفوقة Supper weeds وسوف تعمل أيضا على إنتاج مبيدات حيوية لمكافحة الحشرات المتفوقة Super insects . يمكن إزالة الحساسية للأطعمة المهندسة وراثيا من خلال الهندسة الحيوية لها ، كما يوجد احتمال قائم وهو أن البروتينات من مصادر غير غذائية ربما تصبح مصادر جديدة للحساسية . تحتوى الأطعمة المهندسة وراثيا على جينات من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية الشائعة .

كيفية عمل تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة :

How the technology works :

نظام GURT كما تم تحديده فى براءة الاختراع لشركة Delta & Pines Patent يشمل ثلاث خطوات كل منها يتم التحكم فيها بواسطة جين معين تم إدخاله للنبات بطرق الهندسة الوراثية :

١- A terminator gene : وهو الجين الذى يوقف مرحلة تكوين البذور والذى يتم برمجته لأن يبدأ فى العمل بصفة خاصة أثناء تكوين جنين البذرة عندما يقترب نمو البذور من مرحلة النضج وذلك بطريقة وراثية يتحكم فيها Seed – specific promoter . ومن أحد الأمثلة يجب أن يكون البروتين غير سام ويوقف عملية تكوين البروتين فى جنين البذور ، وهنا سنجد أن النباتات والبذور الناتجة عنها مثلما هو الحال فى فول الصويا والذرة سوف يكون شكلها ونموها عادياً تماماً أثناء الحصاد ولكن بالنسبة للنمو فإن هذه البذور سوف لا تنمو عند زراعتها .

٢- A repressor gene : وهو الجين الذى يجعل جين Terminator فى حالة توقف عن العمل لحين بيع البذور للمزارع . وسوف يحتاج المربون وشركات إنتاج البذور إلى طريقة تمكنهم من إنتاج عدة أجيال من النباتات قبل بيع البذور وبدون موت البذور فى العام التالى . وسوف يتم برمجة هذا الجين ليبدأ فى العمل كل الوقت A constitutive promoter وهذا يبقى بصورة طبيعية على Terminator gene متوقفا عن العمل .

٣- An activator gene : وهذا الجين في وجود بعض المواد الكيماوية التى تضاف للبذور يعتبر An inducible promoter ويقوم بإنتاج بروتين يعمل على القص والتخلص snips out من جزء Terminator gene الذى يتعرف عليه Repressor gene . ويحدث هذا عندما تكون شركات إنتاج البذور جاهزة لبيع منتجاتها من البذور للمزارعين ، حيث تقوم فى البداية بمعاملة البذور ببعض المواد الكيماوية والتى تؤثر على Activator gene الذى يمنع Repressor gene من العمل مما يسمح للـ Terminator gene أن يأتى للعمل فى مرحلة لاحقة والذى سيعمل على إيقاف مرحلة تكوين البذور مؤخرا .

والسؤال الآن لماذا لا يتم قتل هذه البذور قبل بيعها للمزارع ؟؟

الإجابة : هى لأن activator وهو المادة الكيماوية التى تعامل بها البذور يجرى استخدامها بعد مرحلة النمو والتكوين الكامل للبذور حيث يكون Terminator gene غير قادر على إيقاف عملية تكوين البذور حتى الجيل الثانى من البذور مما يجعل البذور قابلة للحصاد بواسطة المزارع . وبذلك فإن نظام GURT يعمل على حماية النفقات المالية فى إنتاج الأنواع النباتية للمحاصيل الجديدة المهندسة وراثيا وتطبيق استخدام هذا النظام بواسطة شركات إنتاج البذور سوف يعمل على عدم إمكانية

جعل تكنولوجيا النباتات المهندسة وراثيا متاحة بحرية للمزارعين والمربين بوجه عام . وتكمن خطورة Terminator technology فى احتمال هروب Terminator gene وانتشاره فى حقول أخرى وللنباتات البرية مسببا فشل تكوين البذور فى المحاصيل المختلفة مما يعمل على نشر صفة العقم فى الأنظمة البيئية المختلفة فى العالم بسبب انتشارها وإحداث صفة العقم فى النباتات والأشجار والأنظمة البيئية المختلفة . حيث إن أى نبات يحمل Terminator gene سوف لا ينتج بذوراً حية ، فإذا قامت حبة لقاح من النبات المهندس وراثيا ويحمل نظام GURT بإخصاب نبات قريب وغير مهندس وراثيا فى الحقل فإن نتيجة هذا التلقيح سوف لا تتكون بذوراً خصبة ، فلقد تم برمجة هذه الطريقة لمنع النباتات المهندسة وراثيا بجينات معينة من أن تبقى حية للجيل التالى . ولقد استخدم نظام GURT لمنع هروب الصفات المهندسة وراثيا بطريقة النقل الأفقى للجينات A horizontal gene transfer . فإذا كانت النباتات المهندسة وراثيا محمية بنظام GURT فإن كل البذور الناتجة عن طريق التلقيح معها أو بهروب حبوب لقاح إليها سوف لا تكون حيّة مما يمنع من انتشار الصفات المهندسة وراثيا فى حقول أخرى أو فى العشائر البرية ، وإذا كانت على سبيل المثال حبة لقاح من نبات كانولا مهندس وراثيا قد تم حملها بواسطة حشرة ما إلى حقول كانولا غير المهندسة وراثيا فإن أى بذور سوف تنتج من هذا التلقيح فى حقول الكانولا الغير مهندسة وراثيا سوف لا تنمو إذا قام المزارع بتخزين هذه البذور لزراعتها فى العام التالى . وهذا هو التلوث الناتج عن استخدام الكائنات المعدلة وراثيا .. وبالمثل إذا انتقلت حبوب اللقاح من نبات كانولا مهندس وراثيا وقامت بإخصاب نباتات عشبية قريبة منها فإن هذه النباتات العشبية سوف لا تكون قادرة على إنتاج بذور هجينة من النباتات المهندسة وراثيا من هذا النوع .

والسؤال الآن هو : هل Terminator technology تجعل الكائنات المهندسة وراثيا تحت ظروف متحكم فيها ؟؟؟

Can the terminator technology keep genetically engineered organisms under controls ?

يمكن تنظيم تكنولوجيا إنهاء حياة النباتات المهندسة وراثيا على أساس أنها صديقة للبيئة Environmentally friendly وذلك لأنها تبطىء من انتشار المحاصيل المهندسة وراثيا أو من انتشار جينات المحاصيل التى هى خارج نطاق الزراعة الحقلية فى الطبيعة ، ويمكن أن يؤدى انتشار الجينات الخاصة بتحمل مبيدات

الحشائش وتلك المقاومة للحشرات عن طريق حبوب اللقاح أو البـذور لمحاصـيل قريبة وراثيا فيؤدى ذلك إلى تكوين أعشاب متفوقة . إن البذور الخصبة يمكـن أن تنتج من نباتات تنقصها الجينات الخاصة بإنهاء حياة النبات Defective terminator plants مما يؤدى بها إلى إمكانية إعادة دورة الحياة للنبات . علما بأن حبوب لقاح النباتات المعدلة وراثيا سوف تكون قادرة على إخصاب Non – terminator plants بدون قتلها . وعلى العموم فإن الصفات المحمية بهذه التكنولوجيا يمكـن لهـا أن تنتشر عن طريق التكاثر الجنسى والبذرى ، وهذا يتضمن انتقال DNA بواسـطة الفيروسات ، البكتريا ، الحشرات ، الفطريات .

جينات إنهاء حياة النبات Terminator genes

هى الجينات التى يتم إدخالها للتركيب الوراثى للنبات لجعل النبات ينتج بذوراً غير خصبة ، وهذه تعتبر قوة تجبر بدورها المزارع على شراء بذور جديدة كـل موسم وألا يقوم بتخزين البذور من موسم لآخر . وهذه العمليـة تتضـمن إدخـال ٣ جينات فى التركيب الوراثى للنبات :

١- A gene encoding toxin :

هذا الجين يكون مميتاً لمرحلة تكوين البذور ولا يؤثر على البذور الناضجة أو النبات . والوضع الطبيعى لهذا الجين هو أنه لا يكـون نشـطاً لمطاطيـة قطعـة الـ DNA التى تحقن بين هذا الجين والـ Promoter .

٢- A gene encoding a recombinase :

وهو الإنزيم الذى يعمل على إزالة الفاصل فى Toxin gene مما يسـمح لـه بالتعبير الجينى .

٣- A repressor gene :

وهو الذى ينتج بروتين يرتبط بالـPromoter الخاص بالـ Recombinase مما يجعله غير نشط .

وهنا يجب ملاحظة أنه عندما يتم نقع البذور قبل بيعها فى محلول Tetracycline فإنه يحدث الآتى :

- يتم قفل نظام تكوين البروتين المحفز Repressor .
- يصبح جين الـ Recombinase نشطاً .
- يتم إزالة الفاصل من جين Toxin gene مما يسمح لهذا الجين بالتعبير الوظيفى .
- وهنا نجد أن المادة البروتينية السامة المتكونة لا يكون لها تأثير ضار على النبات ولكن تؤثر فقط على تكوين البذور حيث ينمو النبات بشكل عادى تماما فيما عدا أن البذور المتكونة تكون عقيمة . وهنا نجد أن المزارعين وبصفة خاصة فى الدول النامية يرغبون فى تخزين بعضا من البذور من الموسم الحالى إلى الموسم القادم لزراعتها . في الوقت الذي ترغب فيه شركات البذور على بيع منتجاتها . ولقد استطاع الباحثون فى شركة Mansanto أن ينقلوا جين هرمون النمو من الإنسان وحقنه فىDNA البلاستيدات الخضراء لنباتات الدخان فحدث للجين تعبير وظيفى وأنتج البروتين الخاص به ولكن الجين لم ينتقل إلى نسل هذه النباتات .

إن حق هذا الاختراع سوف يغطى ليس فقط تكنيكات إنهاء حياة النبات بإنتاج البذور المنتحرة من خلال طرق الهندسة الوراثية ، وكذلك إنتاج حبوب اللقاح العقيمة ولكن أيضا سوف يتم التحكم فى تعبير جينات لصفات خاصة مثل المقاومة للحشرات ، تحمل الجفاف أو التحور فى عمليات تمثيل غذائى ثانوية . وبذلك فإن الهدف من هذه التكنولوجيا فى الحقيقة هو التحكم فى إنتاج البذور ومصادر الصفات الاقتصادية الهامة من الناحية الزراعية ؛ ولذا فإن الجينات المستخدمة وكذلك تلك التى تم تركيبها هى عبارة عن تتابعات سوف تحدث اختلافات حيوية وصحية . وتتلخص طرق استحداث عملية الانتحار فى النباتات بإنتاجها لبذور عقيمة فى الخطوات التالية :

١- لنفترض أن الجين الانتحارى Terminator gene القاتل يسمى بالجين Gene a مرتبط بزائل Transiently نشط هو Promotor يسمى P (T) ، وهنا يجب فصل الجين والـ Promoter بواسطة تتابع قافل Blocking sequence يسمى بالـ Blocker الذى يفصل من على جانبيه تتابعاً قاطعاً من نوع خاص Specific excision sequences يسمى بالـ EX يوجد على جانبى القافل الوراثى Block كما يلى :

P (T) - Ex – Block – Ex – Gene (a)

٢- أما الجين الثانى الذى يلزم تركيبه فى هذا النظام يسمى بجين Recom وهو يقوم بإنتاج إنزيم Recombinase وهو إنزيم متخصص فى التعامل مع تتابع القطع Ex فى التركيب الأول السابق . وهذا الجين يرتبط مع المحفز الكابت Repressible promoter والذى يصبح نشطاً أثناء إنبات البذورP (r)– Recom.

٣- أما الجين الثالث وهو يسمى Repress gene يعمل على إنتاج Repressor الذى يرتبط مع Repressible promoter P (r) لجعل الجين الثانى فى حالة توقف عن العمل ، ومع ذلك فإن البروتين الكابت يعتبر إحدى مكونات هذا النظام المسئول عن الاستجابة للكيماويات الخارجية مثل التتراسيكلين ، وهو يعتبر محفز خارجياً p (tet) يرتبط بالـ Repressor مما يجعل الـ Repressor فعال (وربما يتوقف عن العمل بطريقة أخرى) P (tet) – repress .

وتقوم إحدى هذه الأنظمة الثلاثة بالعمل . ويتم إنبات البذور بواسطة الشركات مما يعمل على قيام Repress gene بإنتاج Repress protein الذى يرتبط بدوره بالـ Recombinase P (r) ويوقفه عن العمل مما يجعل هذا الجين متوقفاً عن العمل Blocked وبالتالى لا يحدث أى شيء .

أما فى غياب التتراسيكلين فإن المزارع يقوم بإنبات البذور وحينئذ لا ينتج البروتين الكابت Repressor protein ، ولذا فإنه خلال إنتاج البذور فإن جين Recombinase يتحول للعمل ليقوم بإنتاج الإنزيم ، ويقوم إنزيم Recombinase يقطع تتابع القفل الوراثى (Block) مما يجعل الجين Gene a يحدث له تعبير وظيفى . فإذا كان الجين a جين قاتل فإنه سيؤدى إلى قتل الجزء المذكر من الزهرة وأن الجين P (t) هو Promoter والذى يحدث له تعبير فقط فى الجزء المذكر من الزهرة وبذلك فإن النبات سوف يكون عقيماً ذكريا .

أما إذا كان الجين a والـ Promoter الخاص به مختصاً بالجزء المؤنث من الزهرة فإن النبات سوف يكون عقيماً من الناحية المؤنثة Female sterile ، أما إذا كان الجين a والـ promoter الخاص به مختصاً بالإنبات فإن البذور سوف تبقى على وضعها ولا يحدث لها إنبات . وعلى العموم فإن جينات promoters , repressors نفسها يمكن أن تكون واحدة من المختارة من مجموعة احتمالات ؛ ولذا فإن الجين a ربما يكون واحداً من الجينات التالية : جين مضاد للحشرات ، جين مضاد للفطريات ، جين مضاد للبكتيريا ، جين مقاوم للملوحة ، جين منتج لبروتين معين ، جين يحور من عملية تمثيل غذائى ثانوية ، وعلى ذلك فإن promoter

النشط P (t) ربما يكون نشط فى المراحل المتأخرة من عمليات التكوين الجنينى ، وتكوين البذور ، وتكوين الأزهار ، وتكوين الأوراق أو فى تكوين الجذور أو فى تكوين الأنسجة الوعائية ، أو فى تكوين حبوب اللقاح (العقم الذكرى) .

تتابع القطع الخاص وإنزيم Recombinase قد تم إنتخابها من مجموعة تتضمن ليس فقط مواقع متخصصة للـ Recombinase ولكن للـ Transposase , Flippase , Resolvase and Integrase ويتضمن العقم الذكرى أى جين مميت يرتبط Anther – specific promoter أو Pollen – specific promoter وتتضمن الجينات المميتة أيضا البروتين المثبط للبروتينات .

الجين المميت المرتبط بمحفز Promoter والذى يكون نشطاً أثناء المراحل المتأخرة من تكوين الجنين سوف يجعل البذور عقيمة ، وعندما يكون مرتبطاً بمحفز Promoter نشطاً أثناء الإنبات سوف يجعل البذور تفشل فى الإنبات . وبالنسبة لتتابعات القفل الوراثى Blocking sequence هى عبارة عن تتابعات وراثية من النيوكليتيدات تتسبب فى العقم الذكرى .

تركيب جينات نباتية متخصصة فى تحفيز تكوين الأزهار المذكرة :

تم إجراء هذا النوع من التركيبات الوراثية لأول مرة فى عام ١٩٩٠ وهو يتضمن سلسلة عمل للجينات التنظيمية نتيجة عملها النهائى هو إنتاج بروتين يحدث خللاً فى تكوين حبوب اللقاح وهذا البروتين محدث الخلل يكون متخصصاً فى الأجزاء المذكرة للنبات وهو يعمل ضد تيار Upstream تخصص المحفز Promoter والدور الذى يقوم به فى الأزهار المذكرة فى النبات . حيث يتم وضع المحفز المتخصص فى الأجزاء المذكرة تحت تحكم التتابعات التنظيمية المسماة بالـ Operator والتى تصبح مقفلة بواسطة Repressor protein الذى يتخصص فى الإرتباط بها . ويتم إنتاج Repressor protein بواسطة مادة كيماوية خاصة تضاف خارجيا ويتم عمل هذه التركيبات الوراثية على النحو التالى :

١- استجابة المحفز P (I) لوجود أو عدم وجود محث كيماوى خارجى والذى يرتبط بالجين الكابت Gene repress لإنتاج البروتين الكابت Repressor protein مما يحدث تثبيطاً لجين Promoter وهو ما يسمى P (I) – Repress

٢- استجابة Operator (Op) للبروتين الكابت ترتبط بمحفز المتخصص الذكرى Male specific promoter p (m) والذى يرتبط بالتحول فى إحداث الخلل من خلال قيام الجين بإنتاج البروتين محدث الخلل والذى يقوم بقتل حبوب اللقاح op - p (m) - disrupt . ويعمل هذا النظام كالتالى :

عندما يكون المحث الكيماوى Chemical inducer موجوداً فإن سلسلة الجينات التالية تقوم بالعمل على النحو التالى External chemical inducer → repressor → operator → no expression of disrupter protein .

وفى غياب المحفز الكيماوى فإن الجين المنتج للبروتين الكابت repressor لا يحدث له تعبير وظيفى ؛ ولذا فإن البروتين محدث الخلل Disrupter protein سوف يحدث له تعبير وظيفى مسبباً العقم الذكرى . وهذه الطريقة مشابهة لتلك التى قامت بتطبيقها وزارة الزراعة الأمريكية ولكنها لا تشمل كيفية عمل Recombinase . ولذا فإن الشركات التى تقوم بإنتاج البذور تعمل على إضافة محفز كيماوى خارجى لمنتجاتها من البذور للمحافظة على خصوبتها ، وبذلك يمكن لهذه الشركات التحكم فى إنتاج بذور خصبة .

الخلاصة :

تتمثل المخاطر المتوقعة من تكنولوجيا إنتاج البذور المنتحرة - فى أن إنزيمات Recombinase والإنزيمات المشابهة ربما تكون أكثر خطورة ؛ لأنها تسبب تراكيب وراثية جديدة فى مواقع غير متخصصة مما يتسبب فى تكوين تراكيب وراثية متسلقة وهو ما يسمى Terminator recombinase does scramble genomes، وبذلك فالجينات المميتة والمسببة لموت الأجنة فى البذور وكذلك الجينات المتعلقة بها تعتبر ضارة بالخلايا بما فى ذلك خلايا الثدييات ، فبعض هذه الجينات الضارة يمكن أن تنتشر من خلال حبوب اللقاح محدثة عقماً ذكرياً فى النباتات نتيجة لهذه التراكيب الجينية ، وبالضرورة قد تسبب عقماً أمياً فى النباتات. فعملية إنتشار الجينات وكذلك التراكيب الوراثية فى النباتات المعدلة وراثيا بجينات معينة ليس بالضرورة أن يتم من خلال التلقيح المفتوح ولكن يمكن أن يتم عن طريق النقل الأفقى للجينات لأنواع غير قريبة من الأنواع التى تحتوى على هذه التراكيب الوراثية ، وهذه العملية لا يمكن التحكم فيها بالتالى . فعدم ثبات هذه

التراكيب المحورة وراثيا على العموم وما يتعلق بها ، وعلى الأخص التراكيب الوراثية الإنتحارية التى تودى بحياة الأجنة ، تزداد بسبب النقل الأفقى للجينات Horizontal gene transfer واستحداث التوافيق الوراثية . تعتبر عملية النقل الأفقى للجينات واستحداث التوافيق الوراثية واحدة من الطرق الأساسية المتولدة عن الفيروسات والبكتيريا المسببة للأمراض والتى تعمل على نشر صفات المقاومة للمضادات الحيوية والعقاقير والتى بدورها تجعل الأمراض غير قابلة للعلاج . وعلى العموم فإن المخاطر الشديدة من تكنولوجيا تكوين البذور المنتحرة فى النباتات يجب أن تتوقف كما يجب التخلص من كل هذه المحاصيل التى تنهى حياتها بهذه الطريقة الشيطانية .

الأسئلة :

١- وضح طريقة استخدمت فيها الوراثة لدعم المقاومة الحيوية فى النبات لكل من الحشرات والفطريات والفيروسات والأمراض البكتيرية ؟

٢- اذكر ما تعرفه عن المقاومة الحيوية باستخدام مضاد الشفرة ؟

٣- صمم طريقة توضح بها كيفية نقل جين مرغوب من البكتيريا إلى النبات ؟

٤- علل : يستخدم Ti - plasmid كناقل للجينات إلى الخلايا النباتية ؟

٥- ما هي Frankenfood مع ذكر أمثلة لها ؟

٦- ما رأيك فى أن صناعة الغذاء أصبحت تتفق الآن مع الحاجة لمواجهة المسببات المرضية كأحد عوامل الفقد فى الإنتاج ؟

٧- علل : أصبحت صناعة الغذاء تتفق مع أهمية استخدام المقاومة الحيوية فى إنتاج الغذاء ؟

٨- ما رأيك في رواج الأطعمة المعدلة وراثيا فى الولايات المتحدة الأمريكية وفى تأثيراتها الصحية على الإنسان والحيوان والنظم الحية الأخرى ؟

٩- اكتب موضوعا عن أهداف إنتاج النباتات المعدلة وراثيا وعن دورها فى حماية البيئة من التلوث وتقليل نفقات الإنتاج ؟

١٠- ما الذي سيترتب على التوسع فى زراعة النباتات المعدلة وراثيا بجينات المكافحة الحيوية للحشرات والمسببات المرضية ؟

١١- ما رأيك في طبيعة المقاومة الحيوية للآفات باستخدام المبيد الحيوي *Bt* ؟

١٢- هل للهندسة الوراثية دور فى دعم صفة المقاومة الحيوية لمرض اللفحة البكتيرية فى الأرز ؟

١٣- ما رأيك في Terminator technology كوسيلة حماية فكرية لمنتجات الهندسة الوراثية ما هو أثرها على البيئة والأصناف النباتية المنزرعة ، مبينا لماذا تلجأ إليها شركات إنتاج البذور وكيف تعمل هذه التكنولوجيا ؟

١٤- اشرح المخاطر البيئية المتوقعة من إنتاج البذور المنتحرة ؟

١٥- علل : للأطعمة المعدلة وراثيا تأثيرات صحية على الإنسان والحيوان والنظم الحية الأخرى ؟

١٦- أجب بنعم أم لا :

أ- الهدف من إدخال تكنولوجيا الجينات الانتحارية للنبات هو إجبار المزارعين على شراء بذور جديدة من المحاصيل المهندسة وراثيا كل عام ؟

ب- من محاذير Terminator technology هى أنها يمكن أن تؤدي إلى انتشار صفة العقم الذكري إلى نباتات أخرى مسببا فشل تكوين البذور فيها ؟

ج- تعمل Terminator technology على قتل جنين البذرة فقط دون المساس بالمكونات الأخرى فى البذور وتعمل هذه الجينات فى مرحلة مبكرة من نمو النبات ؟

د- التتراسيكلين هو المحفز الكيميائي الذى يعمل على بدء جينات Terminator genes فى تعبيرها الوظيفي لإنتاج مواد بروتينية سامة تعمل على قتل جنين البذرة ؟

هـ- تقوم شركات إنتاج البذور بإضافة المحفز الكيميائي للبذور قبل بيعها للمزارع؟

و- يرتبط موت أجنة البذور بنشاط إنزيم الـ Recombinase والذى لا ينـتج فـى غياب المحفز الكيميائي ؟

ل- عدم معاملة البذور بالمحفز الكيميائي يؤدي إلى إنتاج البذور الحية التى تستخدم عاما بعد أخر ؟

م- وجود القافل الوراثي يمنع من إنتاج المادة البروتينية السامة التى تقـوم بقتـل جنين البذرة ؟

ن- استطاعت وزارة الزراعة الأمريكية أن تحمي منتجاتها من النباتات المحـورة وراثيا باستخدام Terminator genes ؟

الباب السادس

الفصل الأول

دور التقانة الحيوية فى مواجهة المسببات المرضية والآفات

الأهداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يستوعب أثر العوامل الحية والعوامل غير الحية على الفقد فى إنتاج الغذاء .

٢- يفهم نسبة المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا فى العالم والزيادة التى حدثت مؤخرا فى هذه المساحة .

٣- يتذكر طبيعة عمل المادة البروتينية السامة *Bt* .

٤- يعرض المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيا .

٥- يدرك أثر الفقد فى إنتاج الغذاء على حياة السكان .

٦- يقارن بين الفقد فى إنتاج الغذاء الناتج عن المسببات المرضية ، والناتج عن الحشرات وعن الحشائش .

٦-يتعرف على المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيا لتحقيق الأمن الغذائي للشعوب .

٨- يدرك الدرجات المختلفة من المقاومة المتكونة فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا بأربع جينات مختلفة من الباسيليس ثيرونجنسز ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات مقارنة بالنباتات غير المعدلة وراثيا .

٩- يستوعب دور الكائنات المعدلة وراثيا على إحداث تغيرات نظامية من خلال تغيير تعبير الجينات وطفورها .

المقدمة :

يعد الهدف من إنتاج الكائنات والنباتات المعدلة وراثيا هو التصدي للمسببات المرضية المختلفة التى تهدد غذاء الإنسان ، والكائنات المعدلة وراثيا هى الكائنات

الناتجة عن طرق التكنولوجيا الحيوية لتطعيم المادة الوراثية DNA ، وهـى التـى تتيح لجينات كائن معين أن تتحور بواسطة إدخال جينات إليها من كـائن آخـر ، ويترتب على ذلك حدوث تغيرات وراثية لم تشاهد فى الكائن الأصلى ، ومن أمثلة المنتجات المعدلة وراثيا المحاصيل المقاومة للحشرات ونباتات العائلـة القرعيـة المقاومة للفيروس ، الطماطم المقاومة لمرض الذبول المتأخر ، المحاصيل المقاومة لمبيدات الحشائش ، نباتات القطن المقاومة لمبيد Bromoxynil ، وفـول الصـويا المتحملة للـ Lyphosate . وقد استخدمت عمليات التحور الوراثى بطرق مختلفـة للمساعدة فى تصنيع الغذاء ولتحسين بعض الصفات مثل القيمة الغذائية للأطعمـة ومقدرتها التخزينية ، وفى هذا الإطار نود الإشارة إلى أن أول منتج غذائى قد تـم إعداده من خلال تكنولوجيا إدخال الجينات هو صنف الطماطم Flavr Savr Tomato ، ونباتات الطماطم التى تم لها إدخال جينات جديدة كان بغرض حمايتها من عملية تكسير الجدار الخلوى الذى يعمل على طراوة أنسجة الثمار مما يعمل على حمايـة الثمار عند تخزينها لفترات طويلة .

والمثال الثانى على المنتجات المصنعة بطرق الهندسة الوراثيـة هـو إنـزيم Chymosin (المنتج الأول من الرينية Rennet) الذى يستخدم فى صناعة الجـبن ، وChymosin هو إنزيم موجود فى اللبن يستخدم فى صناعة الجبن والمنتجات اللبنية الأخرى . ويتم تصنيع حوالى ٩٠% من الجبنة الطازجة باستخدام هـذا الإنـزيم المتحصل عليه من مصادر مهندسة وراثيا . فمن أول الأطعمة المهندسـة وراثيـا والتى وجدت فى الأسواق الأمريكية هو إنزيم Chymosin المعادة صياغته والـذى يستخدم فى صناعة الجبن ، فلقد تم تدعيم عملية التخمر بهذا الإنزيم المنـتج عـن جين من الأبقار تم حقنه فى خلايا بكتيريا القولون ، وفى العشر سنوات الأخيرة منذ أن تم إنتاج هذا الإنزيم وإدخاله فى صناعة الجبن ، ويجرى إنفاق بلايين الجنيهات فى صناعة الجبن لعمل إنزيم Chymosin المعادة صياغته والذى يجرى اسـتهلاكه بأمان تام على مستوى المجتمع . علما بأنه يتم الحصول على الإنزيم التقليدي مـن أنسجة العجول الكبيرة بينما عملت التكنولوجيا الحيوية على تعزيز وإنتـاج هـذا الإنزيم من البكتيريا تحت ظروف عمليات التخمر الميكروبى والتى ينـتج عنهـا الإنزيم بنقاوة وكفاءة مرتفعة ؛ ولذا فإن هذه التكنولوجيا الجديدة قد عملت على بيع الإنزيم بأسعار مرتفعة لزيادة نقاوته وكفاءته . وتستخدم الآن مشتقات أخرى ناتجة عن التكنولوجيا الحيوية مثل Bovine somatotropine والذى يستخدم لزيادة إنتـاج الألبان من الأبقار .

حاجة زيادة التعداد السكاني إلى زيادة إنتاج الغذاء :

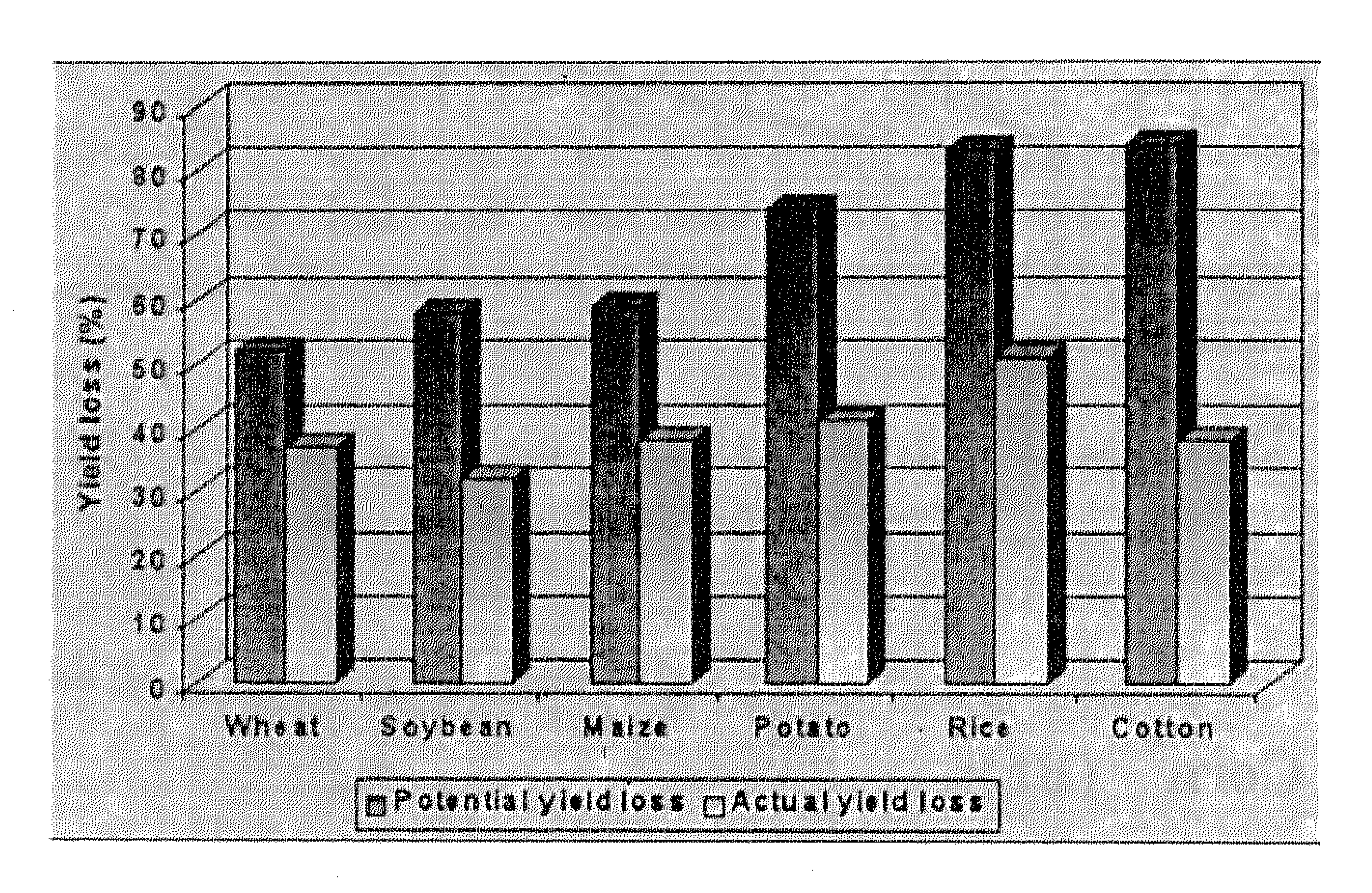
- طبقا لتقرير الأمم المتحدة فإن عدد سكان العالم سوف يصل إلى ٨ بلايين بحلول عام ٢٠٢٥ .
- فى المتوسط تحدث زيادة سنوية فى عدد سكان العالم تقدر بـ ٧٣ مليون إنسان، ٩٧ % من هذه الزيادة سوف تلتهم معدلات النمو فى الدول النامية .
- حوالي ١,٢ بليون فرد يعيشون فى دول تعاني من سوء التغذية .
- حوالي ٨٠٠ مليون فرد ليسوا فى حالة أمن غذائي ، و ١٦٠ مليون من الأطفال قبل سن المدرسة يعانون من سوء التغذية .
- العدد الأكبر من الذين يعانون من سوء التغذية يعانون من نقص العناصر الصغرى مثل الحديد وفيتامين A .
- انعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية يتسببان فى أمراض صحية فى المجتمعات يترتب عليها فقد الإنسان لجهده فى الدول النامية .
- المشاكل الرئيسية تواجه الريفيين الفقراء بسبب نقص الإنتاج ، وانعدام الأمن الغذائي وسوء التغذية
- يزداد انعدام الأمن الغذائي فى الدول النامية عنه فى الدول المتقدمة .
- المساحة المتاحة للفرد فى كل من : المكسيك ، الإكوادور ، نيجيريا ، إثيوبيا هى ٠,٢٥ هكتار فى عام ١٩٩٠ بالمقارنة بأقل من ٠,١٠ هكتار فى كل من : مصر ، كينيا ، بنجلاديش ، فيتنام والصين .
- بحلول عام ٢٠٢٥ سوف تكون المساحة المتاحة للفرد أقل من ٠,١٠ هكتار فى بيرو ، تنزانيا ، باكستان ، إندونيسيا والفلبين .
- ينتج عن الضرر البيولوجي الناتج عن الأمراض والحشرات والحشائش فقد فى الإنتاج يقدر بحوالي ٢٤٣,٤ بليون دولار من الإنتاج الممكن تحقيقه على مستوى العالم والذى يقدر بحوالي ٥٦٨,٧ بليون دولار ، بما يمثل فقداً فى الإنتاج يقدر بحوالي ٤٢% .

- هذا الإرهاب البيولوجي الذى يهدد غذاء وحياة الإنسان على الأرض تمثل فيه الحشرات فقداً فى الإنتاج يقدر بـ ٩٠,٤ بليون دولار ، والأمراض النباتية ٧٦,٨ بليون دولار ، الحشائش ٦٤ بليون دولار .
- تسبب العوامل الحية وغير الحية فقداً في الإنتاج يقدر ب١٥,٧٤ بليون دولار ، وعلى هذا المستوى تسبب الحشرات فقداً يقدر بـ ٣,١٧ ، والأمراض فقداً يقدر بـ ٤,١٢ ، والحشائش فقداً يقدر بـ ١,١٤ بليون دولار .
- يتسبب الاستخدام الموسع للمبيدات من أجل الحد من الفقد فى الإنتاج المتسبب عن الحشرات والأمراض والحشائش في تأثيرات ضارة بالكائنات المفيدة الموجودة بالبيئة ، كما يترك أثراً متبقياً للمبيدات فى الأطعمة ويتسبب أيضا فى تلوث البيئة .
- أظهر عدد من الحشرات تكوين صفة المقاومة للمبيدات الحشرية التى تنتمى لمجاميع مختلفة ، وقد سجلت ٦٤٥ حالة مقاومة حتى عام ١٩٩٦ .
- العدد الأكبر من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية تم تسجيلها على الخضراوات (٤٨) ، المحاصيل المثمرة (٢٥) ، القطن(٢١) ، محاصيل الحبوب (١٥) ، نباتات الزينة (١٣) .
- تكوّن صفة المقاومة للمبيدات الحشرية يستلزم استخدام جرعات عالية من المبيد أو عدداً أكبر من مرات الرش مما يزيد من معدلات تلوث البيئة ومن معدلات الأضرار الصحية المترتبة على ذلك .
- لذا كانت هناك ضرورة لمواجهة الإرهاب الحيوي حديثا باستخدام Biotechnological techniques للحد من الأضرار الناتجة عن الحشرات على مستوى الدول المتقدمة والدول النامية .
- حدثت زيادة فى المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا من ١,٧ مليون هكتار فى عام ١٩٩٦ إلى ٣٩,٥ مليون هكتار فى عام ١٩٩٩ ، وقد زاد العائد الناتج عن زراعة هذه المحاصيل من ٠,٢٣٥ مليون دولار فى عام ١٩٩٦ إلى ٢,٣ مليون دولار فى عام ١٩٩٩ .
- فى عام ١٩٩٧ تم زراعة المحاصيل المعدلة وراثيا فى ١٢ دولة ومعظم المساحات المنزرعة بها كانت فى ٥ دول متقدمة هى أستراليا ، كندا ،

الأرجنتين ، الصين ، الولايات المتحدة الأمريكية ، حيث قامت الولايات المتحدة وحدها بزراعة ٨٠ % من المساحة العالمية المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثيا لمواجهة الإرهاب البيولوجي .

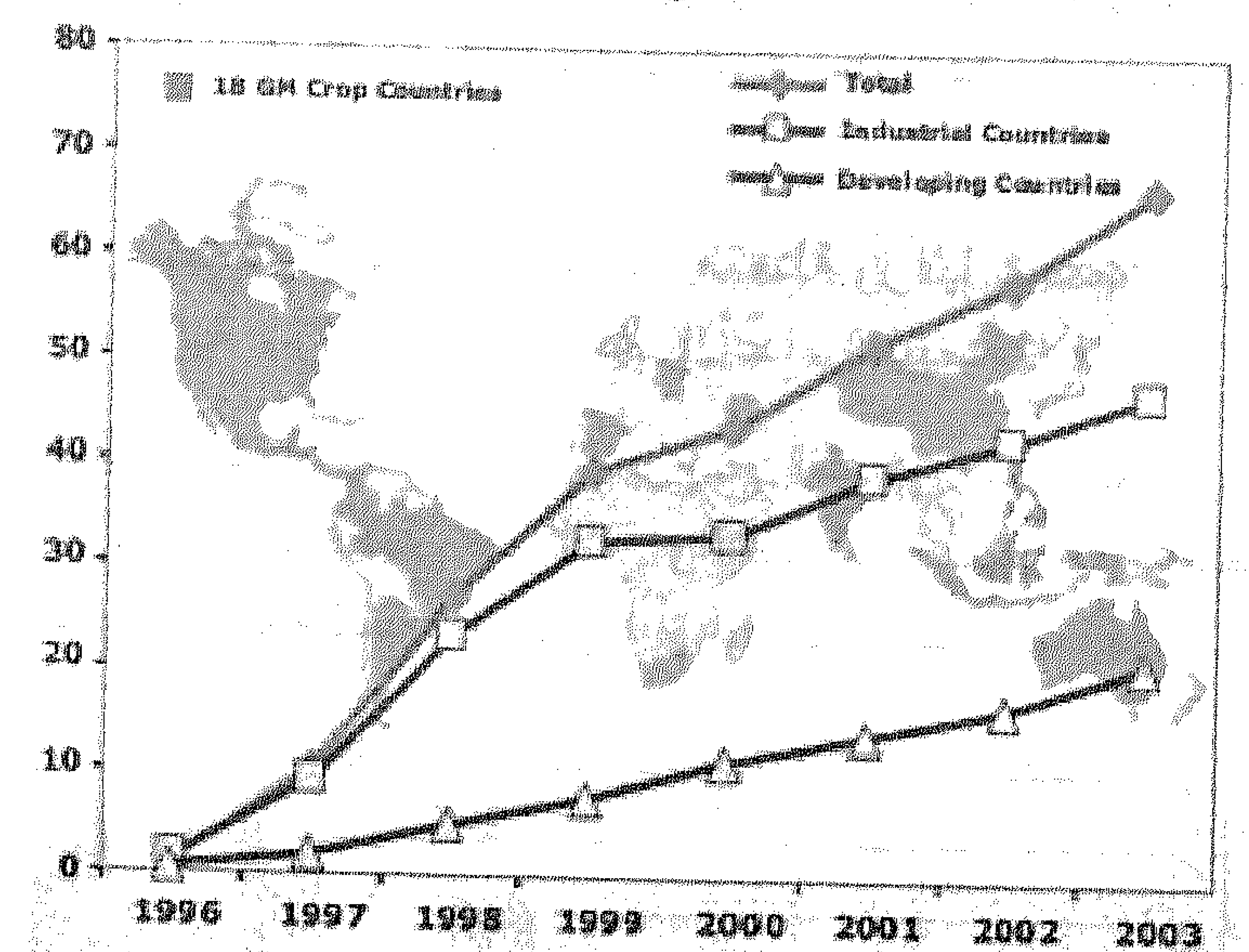
- يترتب على استخدام تكنولوجيا النباتات المعدلة وراثيا : خفض معدلات رش المبيدات الحشرية ، زيادة كفاءة ونشاط الأعداء الطبيعية للآفات .

الشكل التالي (شكل رقم ١٠٧) يوضح الفقد فى إنتاج الغذاء والراجع إلى المسببات المرضية المختلفة للنباتات والإصابات الجشرية والحشائش فى ٦ محاصيل مختلفة منتجة للغذاء ، منسوبا أو مقارنا بالإنتاج الحقيقي .



شكل رقم ١٠٧ . النسبة المئوية للفقد فى إنتاج الغذاء والراجع إلى المسببات المرضية المختلفة للنباتات والإصابات الحشرية والحشائش فى ٦ محاصيل مختلفة

الشكل التالي (شكل رقم ١٠٨) يوضح المساحة المنزرعة بالنباتات المعدلة وراثيا على مستوى العالم بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ – ٢٠٠٣ .



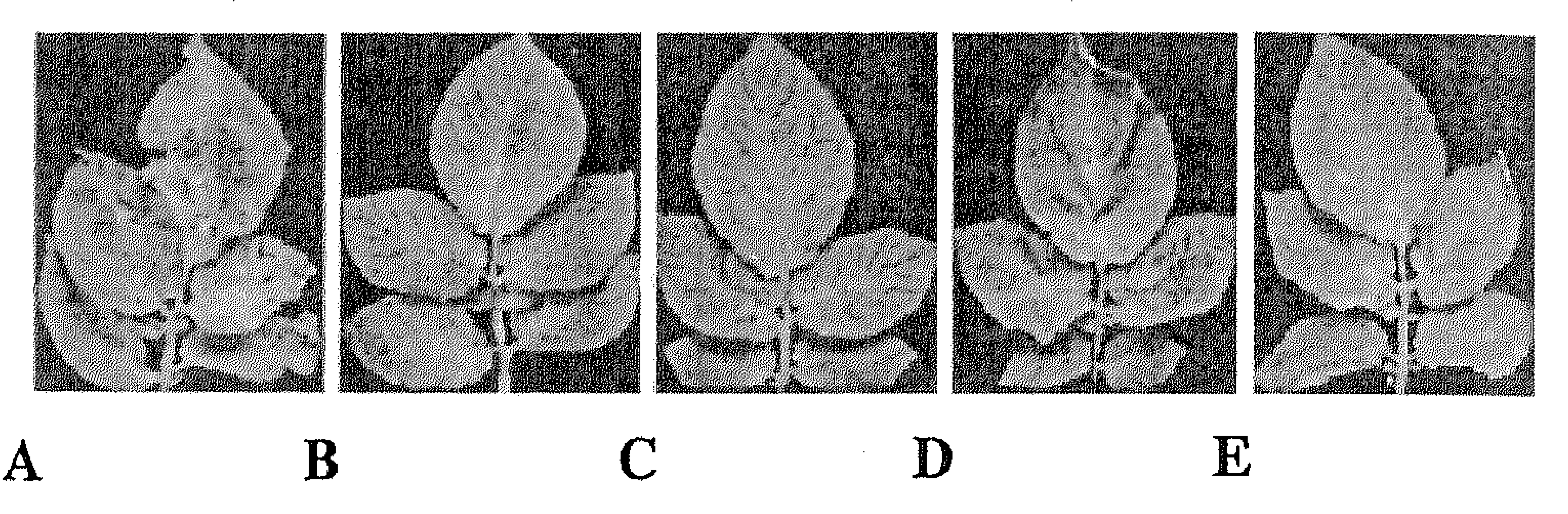
شكل رقم ١٠٨ : المساحة المنزرعة بالنباتات المعدلة وراثيا على مستوى العالم بالمليون هكتار خلال الفترة من ١٩٩٦ – ٢٠٠٣

نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات الـ :

Bt Corn (Bt):

نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات الـ *Bt* هى نباتات هجينة تم هندستها وراثيا لإنتاج سموم الـ *Bt* ، **وكانت** هذه المادة السامة نشطة فى مكافحة الآفات الحشرية مثل ثاقبات الذرة الأوربية ، وأعطت نوعا من الحماية ضد الديدان اليرقية كما أعطت نتائج أفضل فى تقليل تكاليف الإنتاج مقارنة باستخدام المبيدات الحشرية وفى أغسطس عام ١٩٩٥ أعلنت كل من وزارة الزراعة الأمريكية ومنظمة *EPA* عن قبولها لنباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات *Bt* للاستخدام على النطاق التجارى، وقد زاد معدل استخدام نباتات الذرة المحورة وراثيا بجينات الـ *Bt* من ١,٤ % فى عام ١٩٩٦ إلى حوالى ٣٠% من المساحة الكلية المنزرعة بالذرة لتمثل حوالى ٢٦ مليون فدان فى عام ١٩٩٩. الشكل التالي(شكل رقم ١٠٩) يوضح درجات

مختلفة من المقاومة المتكونة فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا بأربع جينات مختلفة من الباسيليس ثيرونجنسز ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات مقارنة بالنباتات غير المعدلة وراثيا فى يسار الشكل .



A B C D E

Figure 109 . Leaf bioassay comparing control line (A) and transgenic lines expressing *cry*1Ca5 (B), *cry*1Ba1 (C), *cry*1Ac9 (D) and *cry*9Aa2 (E).

الشكل التالي (شكل رقم ١١٠) يوضح طبيعة عمل المواد البروتينية السامة من الباسيليس ثيرونجنسز .

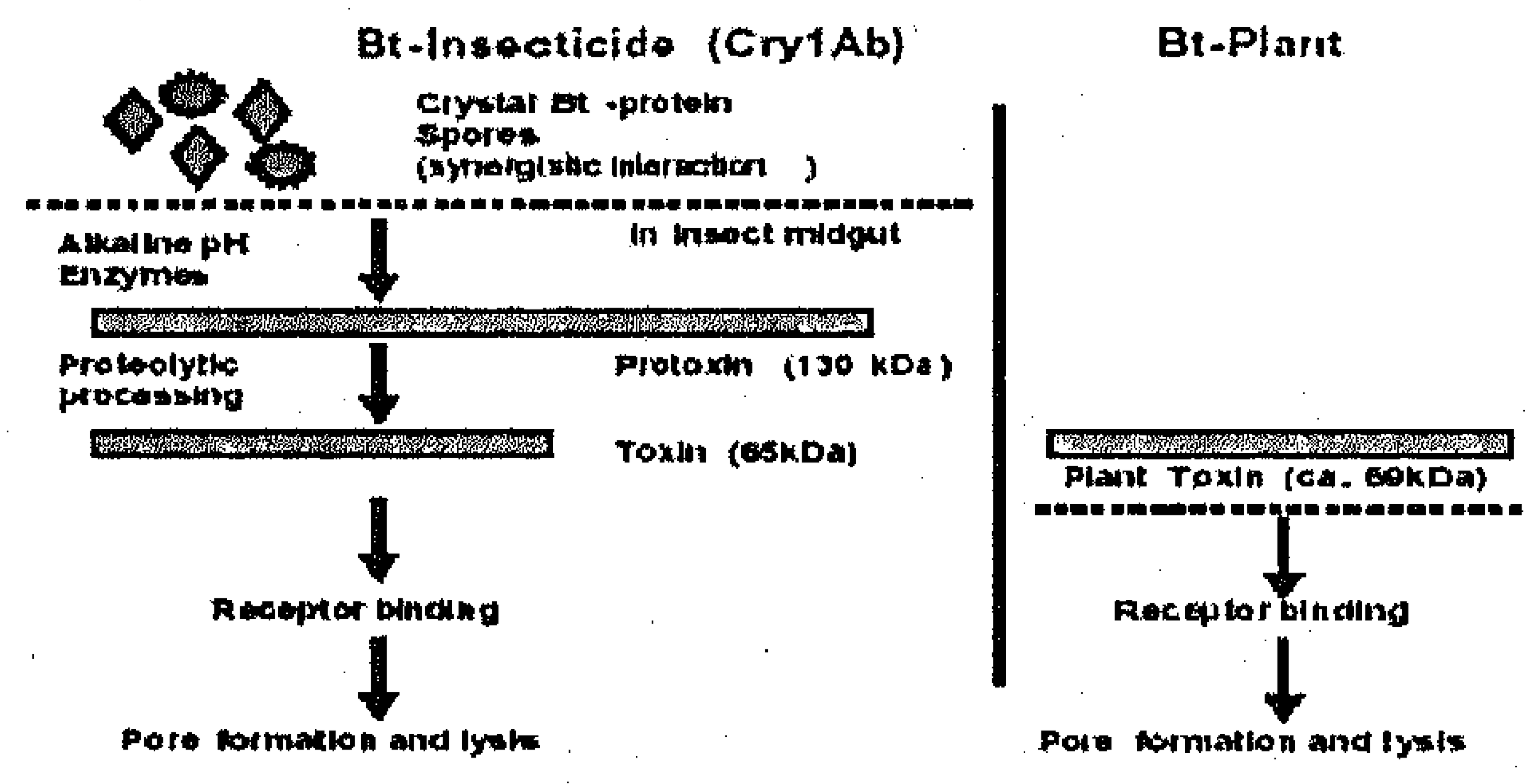


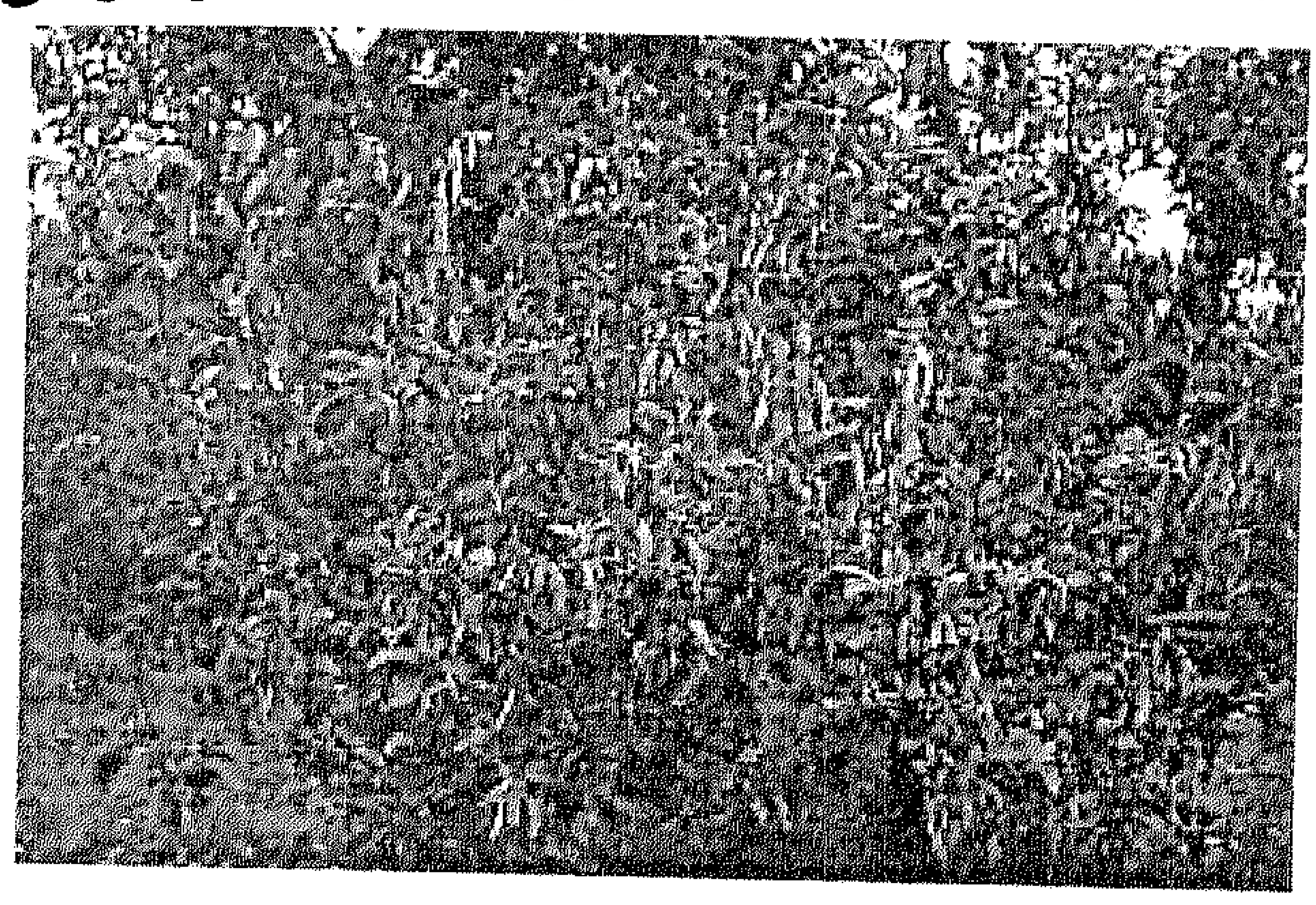
Figure 1. Differences Bt-insecticides and Bt-plants.

10

شكل رقم ١١٠ يوضح الإختلافات فى طبيعة عمل المبيد الحيوى *Bt*

وطبيعة عمله فى النباتات المعدلة وراثيا بجينات هذا المبيد الحيوي *Bt*

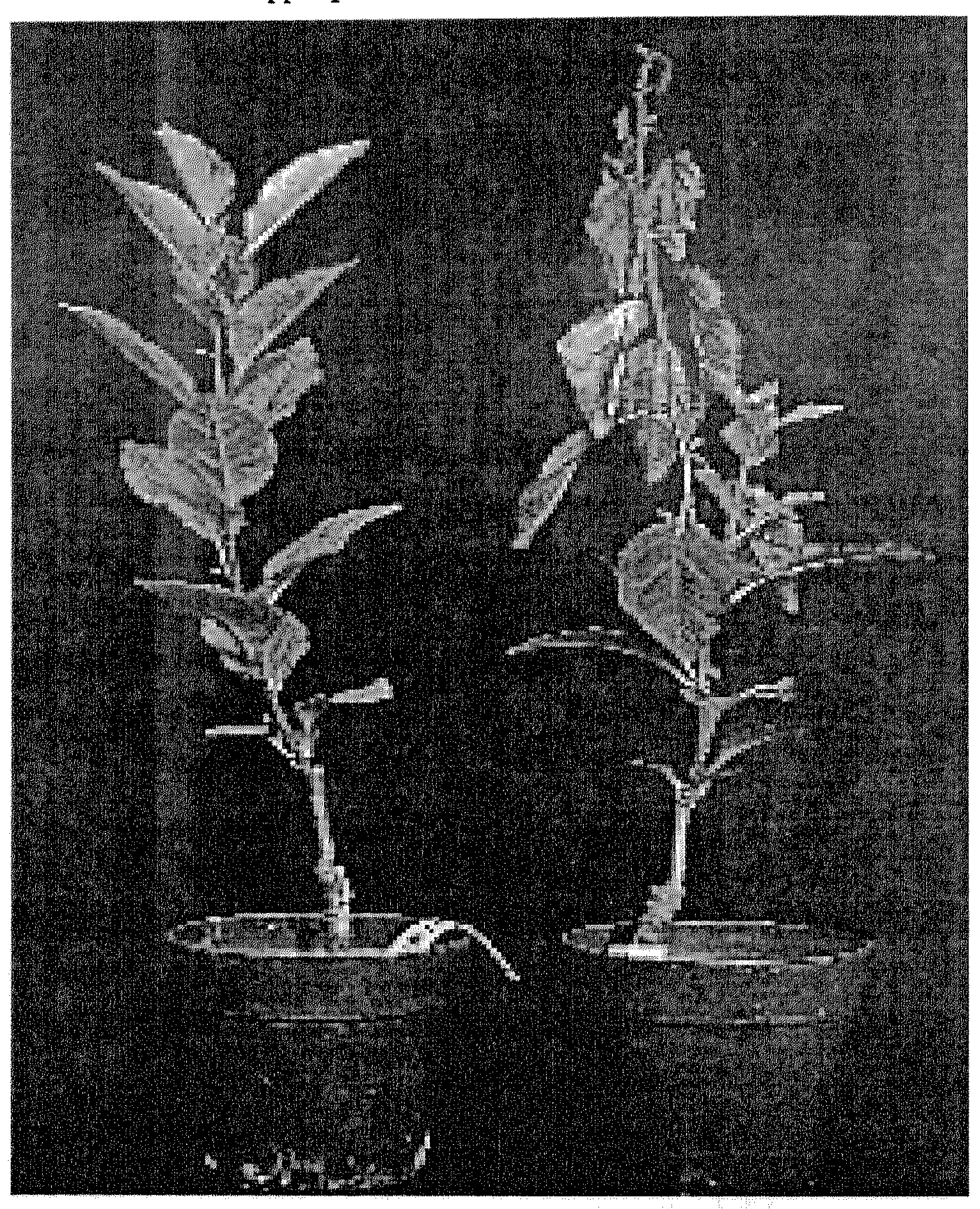
الشكل التالي (شكل ١١١) يوضح مرض اللفحة النارية فى التفاح الذى تسببه بكتيريا *Erwinia amylovora* والذي يصعب السيطرة عليه بسبب النشاط المحدود لرش المضادات الحيوية ، وتكوين عشائر من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية فى بساتين الفاكهة والنقص على المستوى التجاري فى الأصناف المقاومة لمرض اللفحة النارية . أظهرت نباتات التفاح المعدلة وراثيا التى حدث بها تعبير جينى للـ SB-37 lytic peptide analog مقاومة للبكتيريا المسببة للمرض فى الحقول .



شكل رقم ١١١ . يوضح شجرة من التفاح مصابة بشدة بمرض اللفحة النارية الذى سببته بكتيريا *Erwinia amylovora* وفيه يلاحظ أن الأجزاء البنية المقتولة من المجموع الخضرى تتخلل المجموع الخضري

ميكانيكية عمل الـ Attacin كمادة بروتينية تعمل على تثبيط تخليق الغشاء البروتيني الخارجي فى البكتيريا السالبة لصبغة جرام ، والـ Attacin يحدث له تعبير فى نباتات البطاطس المعدلة وراثيا لتعزيز مقاومتها للعدوى البكتيرية بواسطة السلالة *E. carotovora subsp. atrospetica* ، أشجار التفاح والكمثرى المعدلة وراثيا والتى يحدث بها تعبير لإنتاج هذا البروتين (Attacin) Attacin Transgenic pear and apple expressing attacin genes يحدث بها تعزيز معنوى ملحوظ فى صفة المقاومة لبكتيريا *E. amylovora* فى اختبارات الصوبة الخارجية. بينما فى الاختبارات الحقلية لوحظ انخفاض ملحوظ فى مرض اللفحة النارية فى نباتات التفاح المعدلة وراثيا والتى حدث بها تعبير وظيفي للـ attacin genes ، حيث تنتج نباتات التفاح المعدلة وراثيا مادة attacin فى المسافات بين الخلوية intercellular space والتى فيها تتضاعف البكتيريا المسببة للمرض where E.

amylovora multiplies قبل حدوث العدوى ، مما يقلل بدرجة معنوية من مـــرض اللفحة النارية حتى وإن كانت النباتات تنتج مستويات منخفضة مـــن هـــذه المـــادة البروتينية even in apple plants with low attacin production levels .



شكل رقم ١١٢ يوضح فى اليسار صنف التفاح المعدل وراثيا والذى يحدث فيه تعبير وظيفي للمادة البروتينية expressing attacin مقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا فى يمين الشكل

الشكل السابق (شكل رقم ١١٢) يوضح فى اليسار صنف التفاح المعدل وراثيا والذى يحدث فيه تعبير وظيفي للمادة البروتينية expressing attacin والتى تعزز وبدرجة معنوية من المقاومة لمرض اللفحة النارية مقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا فى يمين الشكل .

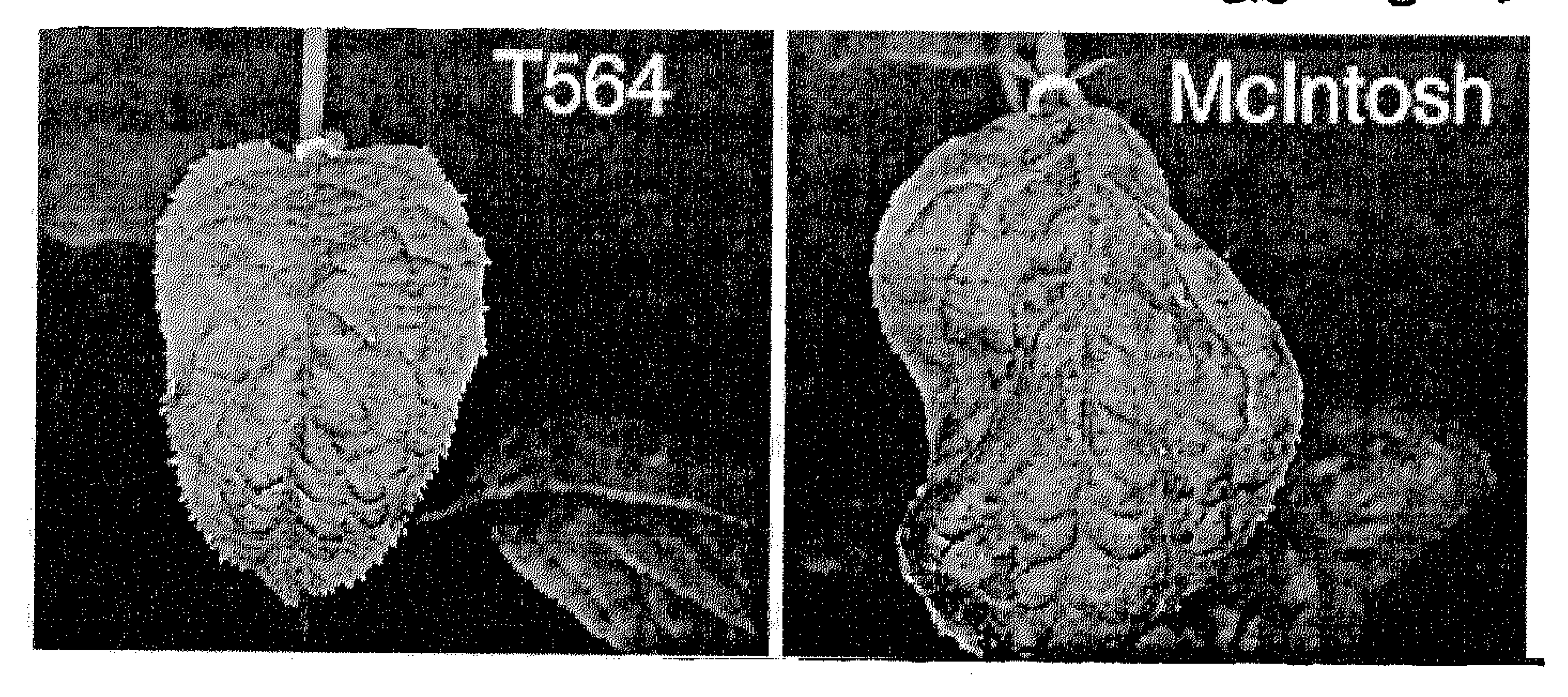
فطر *Trichoderma harzianum* هو عبارة عن عنصر مقاومة حيوية biological control agent ؛ لأن له نشاط مضاد ضد الفطريات الممرضة . ميكانيكية هذا النشاط تعود إلى تثبيطه لعملية إنبات الجراثيم وإلى تثبيط إطالة الأنبوبة الجرثومية وإلى تحليل قمة الهيفا الفطرية ، ولملاحظة ذلك فإن فطر *Trichoderma harzianum* ينتج إنزيمات تقوم بتحليل الشيتين chitin الموجود فى الجدار الخلوى للفطريات وإنزيمات الشيتينيز يمكن تقسيمها إلى endochitinase, exochitinase (N-acetyl-□ -D-glucosaminidase), and chitobiosidase . نباتات البطاطس المعدلة وراثيا يحدث بها تعبير وظيفي لجين endochitinase gene فتظهر المقاومة للمسبب المرضي A. solani (الذى يسبب اللفحة المبكرة) ولـ *B. cinerea* (التى تسبب القالب الرمادي) . الفطر *Venturia inaequalis* هو الفطر الذى يسبب apple scab الذى يصيب أوراق التفاح وثماره مسببا انخفاض فى إنتاج الثمار وجودتها ولذلك تطبق رشات عديدة من المبيدات الفطرية من قبل مزارعي التفاح للسيطرة على هذا المرض خلال موسم النمو . أشجار التفاح المعدلة وراثيا Transgenic 'McIntosh' apple trees التى يحدث بها تعبير وظيفي لجين الشيتينيز الداخلي أوالخارجي أو كلاهما expressing either the endo- or exochitinase gene or both genes تعمل على زيادة المقاومة لمرض apple scab الموجود بالشكل التالي ، وهذا يعكس الاستخدام الواسع المدى للنباتات المعدلة وراثيا بجين الشيتينيز chitinase transgenes للسيطرة على الأمراض الفطرية فى النباتات .



شكل رقم ١١٣ . أعراض إصابة أوراق التفاح

(اليسار) والثمار (اليمين) بمرض Scab

الشكل السابق (شكل ١١٣) يوضح أعراض إصابة أوراق وثمار التفاح بمرض Scab علما بأن scabby fruits ترفض من قبل المستهلكين ولها جودة ضعيفة فى التخزين .



شكل رقم ١١٤ . يوضح أوراق الصنف المعدل وراثيا من التفاح transgenic 'McIntosh' line T564 (اليسار) بالمقارنة بالصنف غير المعدل وراثيا 'McIntosh' (اليمين) والقابل للإصابة

الشكل السابق (شكل رقم ١١٤) يوضح أوراق الصنف المعدل وراثيا من التفاح transgenic 'McIntosh' line T564 مع الصنف غير المعدل وراثيا 'McIntosh والقابل للإصابة .

تتركز الدراسات فى مجال التحور الوراثي للنباتات والكائنات الحية الدقيقة على التأثيرات المباشرة لحث الكائنات المحورة وراثيا على إحداث تغيرات نظامية من خلال تغيير تعبير الجينات وطفورها . وسوف نعرض في هذا الموضوع النقاط التالية :

١- الأحماض النووية الحرة :

من المعروف أن الـ DNA العارى وهو DNA بدون غلاف فيروسي يمكن لهذه الأحماض النووية أن تتحرر من الخلايا بعد موت الكائن . ولقد شوهدت الأحماض النووية بحيويتها وبقائها فعالة لمدة طويلة بعد موت الكائن ، ولقد أقر معهد علوم الدراسات الاجتماعية أن الأحماض النووية تعرف الآن ببقائها فى كل البيئات متضمنا ذلك النظام الهضمى فى الكائنات الحيوانية ، ولقد عرفت الآن عملية النقل الأفقى للجينات على مستوى البكتيريا والتحول الوراثى بإعطاء الـ DNA والتوافيق الوراثية بأن لها دورا معنويا فى المقاومة للعقاقير والمضادات الحيوية للأمراض المعدية .

٢- الكائنات المعدلة وراثيا :

وهنا سوف نتناول مثالاً على بكتيريا *Klebsiella planticola* والتى تسببت فى موت نباتات القمح فى التربة المختلطة بالكائنات الدقيقة خلال المراحل التجريبية ، فهى لم تتسبب فقط فى موت نباتات القمح بل أثرت أيضا تأثيرا سلبيا على العمليات الميكانيكية مع القمح ، وقد اختلف ذلك من حالة لأخرى . وفى حالة أخرى فإن البكتيريا المهندسة وراثيا من نفس النوع السابق والتى تعمل على المساعدة فى تحويل المخلفات المحصولية إلى إيثانول قد قضت على ٥٠% من الفطريات المثبتة للنيتروجين ، ومع ذلك فإن السلالات الأبوية من نفس البكتيريا وغير المحولة وراثيا لم تتسبب فى قتل نباتات القمح مثل الأنواع المحورة وراثيا منها .

٣- القيمة الغذائية :

تكمن خطورة نقل الجينات فى الإقلال من القيمة الغذائية للأطعمة بسبب التوافيق الوراثية غير المرغوبة والتى تحدث تغيرات كيموحيوية فى النباتات .

٤- تلوث التربة :

أظهرت دراسات حديثة عديدة أن جذور نباتات الذرة المحورة وراثيا بجينات ال *Bt* تقوم بإفراز سموم الـــ *Bt* والتى ترتبط بجزيئات التربة وتبقى نشطة بها لعدة شهور ضد الحشرات والميكروبات ويعد تأثيرها على العشائر الميكروبية فى التربة غير معروف حتى الآن .

٥- التفوق العشبي :

تزيد عملية نقل الجينات من خطورة إنتاج أعشاب مقاومة لمبيدات الحشائش ، الأمر الذى سوف يترتب عليه الحاجة لمبيدات حشائش أكثر وأقوى لمكافحة تلـــك الأعشاب ، وهذه سوف تحتاج إلى تكاليف ملايين الأطنان من المبيدات لمكافحتها . ولقد شوهدت حديثا أعشاب فى حقول الكانولا مقاومة لثلاثة مبيدات وقد أظهـــرت اختبارات الـــ DNA أن هذه الأعشاب مقاومة لكل من المبيدات التالية :

Roundup , Liberty , Pursuit Chemicals

وفيما يلي بعض المعلومات التى يجب معرفتها عن الأطعمة المعدلة وراثيـــا لتحقيق الأمن الغذائي للشعوب :

١- تم عمل أول نباتات معدلة وراثيا فى عام ١٩٧٠ واستخدمت على نطاق واسع فى عام ١٩٩٣ وأحيانا كانت تتم العملية بأخذ جينات من أنواع معينة ونقلهـــا لأنواع أخرى .

٢- تحتوى أكثر من ٦٠% من الأطعمة التى نتناولها على مشتقات مهندسة وراثيا وهذه تتضمن أغذية الأطفال ، الصودا ، شيبسى الذرة ، الكيك ، وكل الأغذيـــة التركيبية للأطفال مثل الصويا واللبن والتى تحتوى بصفة أساسية على مشتقات معدلة وراثيا .

٣- إن الهندسة الوراثية فى مجال الزراعة سوف تعمل على تلبية الحاجة الملحـــة لإنتاج مبيدات حشائش أكثر سمية لمكافحة الأعشاب المتفوقـــة Supper weeds وسوف تعمل أيضا على إنتاج مبيدات حيوية لمكافحة الحشرات المتفوقة Super insects .

٤- يمكن إزالة الحساسية للأطعمة المهندسة وراثيا من خلال الهندسة الحيوية لها ، كما يوجد احتمال قائم وهو أن البروتينات من مصادر غير غذائية ربما تصبح مصادر جديدة للحساسية .

٥- تحتوى الأطعمة المهندسة وراثيا على جينات من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية الشائعة .

٦- يلزم حكومة الولايات المتحدة الأمريكية أمانا غير خاص لإختبار الأطعمة المعدلة وراثيا حيث لا توجد منتجات معلمة ، خاصة وأن ٨١% من المستهلكين يرغبون فى تعليم الأطعمة المعدلة وراثيا .

الخلاصة :

هناك أموراً معينة تحيط باستخدام الكائنات المعدلة وراثيا تتركز هذه الأمور حول عملية التحور الوراثى نفسها ، خاصة وأن التحور الوراثى يرجع إلى انتقال DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن آخر يتبع جنس آخر . وقد أمكن حديثا استخدام DNA من كائن يتبع جنس معين لكائن آخر يتبع يتبع جنساً أخر . كما أمكن حديثا استخدام الـ DNA من مصدر حيوانى أو من البكتيريا ونقله للنباتات ، ومن أحد الأمثلة على ذلك هو نقل الجينات من كائنات حيوانية مثل الأسماك وحقنها داخل جينومات أخرى للأطعمة مثل الفراولة Strawberries أو الطماطم ، ومن هنا نستطيع أن نستنتج ونتوقع المخاطر الصحية المحتملة المترتبة على نقل الجينات بين أنواع مختلفة من الكائنات ، وتسمى مجموعة الأطعمة التى استخدمت فيها تقنيات التطويع الجينى بالـ Frankenfood أو بالأطعمة خليعة الهندسة الوراثية .

الأسئلة :

١- اذكر الهدف من إنتاج النباتات المعدلة وراثيا ؟

٢- ما هي الكائنات المعدلة وراثيا ؟

٣- ما هى المنتجات الغذائية التى تم إعدادها من خلال تكنولوجيا إدخال الجينات ؟

٤- لماذا الحاجة إلى زيادة إنتاج الغذاء والحد من معدلات الفقد فى الإنتاج باستخدام طرق الهندسة الوراثية ؟

٥- لماذا تنتج نباتات الذرة المعدلة وراثيا بجينات *Bt* ، وما هي طبيعة عمل المادة البروتينية السامة للـ *Bt* فى القناة الهضمية ليرقات الحشرات ؟

٦- اشرح دور الأطعمة المعدلة وراثيا في تحقيق الأمن الغذائي للشعوب ؟

٧- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- أمكن استخدام جينات *Bt* فى تكوين صفة المقاومة فى البطاطس ضد الإصابة بالديدان التى تصيب الدرنات ؟

ب- ترتب على استخدام *Klebsiella planticola* المهندسة وراثيا فى حقول القمح للمساعدة فى تحويل المخلفات المحصولية إلى إيثانول القضاء على ٥٠% من الفطريات المثبتة للنيتروجين ؟

ج- لا يترتب على نقل الجينات حدوث تغيرات كيموحيوية فى النباتات تؤدي إلى توافيق وراثية غير مرغوبة تقلل من القيمة الغذائية للأطعمة ؟

د- يترتب على استخدام النباتات المعدلة وراثيا بجينات *Bt* حدوث تأثير على العشائر الميكروبية فى التربة بفعل سموم *Bt* التى ترتبط بجزيئات التربة وتبقى نشطة بها لعدة شهور ؟

هـ- تحتوى أكثر من ٦٠% من الأطعمة التى نتناولها على مشتقات مهندسة وراثيا؟

الفصل الثاني

نباتات *Bt* المهندسة وراثيا كعوائل نباتية كاذبة للآفات

الأهداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يوضح المميزات الاقتصادية والبيئية للنباتات المهندسة وراثيا بالجينات المعبرة وظيفياً من Bt والمنتجه للمواد البروتينية السامة المضادة للحشرات .

٢- يعي بمحدودية استخدام المنتجات البكتيرية والتى ترجع إلى التكلفة المرتفعة والانخفاض الشديد فى خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ،الأمر الذى يتسبب فى زيادة معدلات الرش بهذه المبيدات الميكروبية.

٣- يستعرض أهمية دعم صفات المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام Chitinase gene الموجود فى سلالة *Bacillus licheniformis* والذى يقوم بتحليل Chitin، والشيتين بدوره يوجد فى كيوتيكل الكائنات البحرية من الفقاريات ، الهيكل الخارجى للحشرات ، الجدار الخلوى للفطريات ،بينما لا يوجد فى الفقاريات والكائنات النباتية ،ولذلك فإنه يعتبر مبيداً حيوياً ذا خاصية انتخابية حيث يعمل ضد بعض الكائنات ولا يعمل ضد البعض الاخر .

٤- يفهم بأن الشيتين أصبح له اهتماماً خاصّاً فى مكافحة كل من الفطريات التى تسبب الأمراض النباتية والآفات الحشرية حيث يتسبب إنزيم Chitinase فى زيادة معدل موت الحشرات بفعل المبيد الحيوى *Bt*.

٥- يعي بأن تطبيق استخدام إنزيم الشيتينيز ضمن تحضيرات المبيد الميكروبى Bt سوف يؤدى إلى اتصال جيد وأفضل للـــ Bt مع الغشاء الخلوى للقناه الهضمية للحشرات.

٦- يفهم بأن استخدام مثل هذه المبيدات الميكروبية (استخدام الجينات المنتجة لإنزيم الشيتينيز فى عملية التحول الوراثي للنباتات) سوف تكون مفيدة جدّ فى القضاء على صفة المقاومة الموجودة عادة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt*.

٧- يستوعب أهمية استخدام إنزيم Chitinase في تحسين كفاءة المبيدات الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الآفات.

٨-يستعرض أثر استخدام المبيدات الكيماوية في مكافحة الآفات ولمكافحة الفطريات والحشائش فيما تسببه من أضرار بيئية تضر بالكائنات النافعة فى البيئة وغير المستهدفة من عملية المكافحة الكيماوية

٩-يدرك وجود الأثر المتبقى للمبيدات فى أوراق النباتات وفى الأطعمة مما يتسبب فى تلوث البيئة وفى أضرار صحية خطيرة

١٠- تفهم خطورة عملية استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات والذي يترتب عليه زيادة الضغوط البيئية على الكائنات بفعل زيادة معدلات التلوث البيئى .

١١- بيان ضرورة إدخال التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة لإنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض لتحسين إنتاجية النباتات وللإقلال من الفاقد فى الإنتاج وللحد من تلوث البيئة بالكيماويات التى تستخدم فى مكافحة الأمراض والآفات.

١٢- استعراض أن العديد من الأنواع الحشرية والمسببات المرضية والحشائش قد تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات المستخدمة فى مكافحتها.

١٣- التوعية بدور العالم Mayer بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة والذى أوضح أن النباتات تحتوى على بروتينات الحماية ،وهذه البروتينات وجدت فى جنس Citrus ،الموالح والذى وجد هو وزملاؤه مجموعتين من الإنزيمات فى جنس Citrus هما Chitinase, glucanases حيث وجدوهما فى الجذور والأوراق والثمار والأزهار مما يجعل هذه النباتات نشطة فى مكافحة الحشرات والفطريات.

١٤- توضيح دور عالم فسيولوجيا النبات McCollum والذي ركز فى عمله على إنزيمات Glucanases التى تقوم بتكسير Glucans ، وهذه الإنزيمات تعتبر مركبات مضادة للفطريات وتوجد فى الموالح.

المقدمة :

Chitinase هو الإنزيم المحلل للشيتين ، والشيتين هو واحد من معظم Biopolymers الموجودة فى الطبيعة ؛ لذلك فقد أخذ Chitinase اهتماماً خاصّاً فى

مجال الصناعة والطب والمكافحة البيولوجية، وتقوم العديد من سلالات البكتريا بإنتاج إنزيمات Chitinase ،وهذه تتضمن الأجناس التالية *Bacillus, Streptomyces,* *Serratia, Alteromonas, Aeromonas* حيث تقوم هذه السلالات بإنتاج العديد من إنزيمات Chitinases، ولقد أوضحت الدراسات أن إنزيمات Chitinases المنتجة بواسطة *Bacillus circulans* ,*Serratia* , *Streptomyces* يتم تخليقها بواسطة العديد من الجينات، بينما العديد من الإنزيمات المنتجة بواسطة *Streptomyces, B.* *circulans, Alteromonas* يتم تخليقها بواسطة جين واحد ، وقد لوحظ أن المزارع النشطة من *Bacillus lichenformis TP-1* والتى عمرها من ٦- ٧ ساعات كانت ذات كفاءة عالية جداً فى إنتاج Chitinase حيث كانت تعطى نشاطاً لثلاثة إنزيمات من مجموعة Chitinases ، بينما وجد أن المزارع القديمة من *B. lichenformis* أظهرت نشاطاً لإنزيم واحد فقط من مجموعة Chitinases .

تعطى المبيدات الحشرية الميكروبية ميزة جيدة من ناحية الأمان والكفاءة فى مكافحة الحشرات، ففى عام ١٩٩٢ تم معاملة أكثر من ٢ مليون من مسطحات وزراعات المحاصيل الحقلية فى الولايات المتحدة الأمريكية بالمبيد الحيوى المستخلص من الباسيلس ثيرونجنسز، بينما في عام ١٩٩٦ تم دخول المحاصيل الحقلية المهندسة وراثيا بالجينات المعبرة وظيفياً من *Bt* والمنتجه للمواد البروتينية السامة المضادة للحشرات ، وقد تسبب هذا فى نتائج جيدة وعديدة لها مميزات اقتصادية وبيئية ، وعلى سبيل المثال ، منذ أن تم إدخال نباتات القطن المهندسة وراثياً فى عام ١٩٩٦ فى مجال الزراعة حدث انخفاض فى كمية المبيدات التى تستخدم فى الرش على هذه النباتات بواقع ٣,٨ مليون لتر فى الولايات المتحدة الأمريكية ، وقد أدى هذا إلى حدوث انخفاض ملحوظ فى كمية المبيدات الحشرية التى تستخدم في مكافحة آفات نباتات القطن . ومع ذلك فإن إستخدام النباتات المهندسة وراثياً بجينات *Bt* ربما تتسبب فى أمر خطير يترتب عليه مقاومة الحشرات لكل من نباتات *Bt* ومعلق المبيد الميكروبى المستخدم فى رش هذه النباتات .

وتحت الظروف الحقلية لم توجد حالات تكونت فيها صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المهندسة وراثياً بجينات *Bt* ، بينما تكونت صفة المقاومة هذه فى حشرة السوس Plutella xylostella ضد سموم *Bt* عند رش هذا المبيد الحيوى تحت الظروف الحقلية ، أما العشائر المعملية من حشرة السوس والتى

كانت مقاومة للمادة البروتينية السامة Cry 1A استطاعت أن تقاوم النباتات المهندسة وراثياً والتى كان يحدث فيها تعبير مرتفع نحو إنتاج المادة البروتينية السامة Cry 1Ac .

ومن الأمثلة فى هذا الإطار نباتات البطاطا حيث تعتبر من المحاصيل الزراعية الهامة فى مجال الإنتاج الزراعى. وتبذل الآن الجهود المستمرة فى مجال التكنولوجيا الحيوية لإنتاج نباتات منها مقاومة للآفات ، وهذه تعتمد على إحداث تحول وراثى للنباتات بجينات فردية تنتج الإنزيمات أو السموم المضادة للحشرات وهذه تعتمد أساساً على جين الدلتا إندوتوكسين بروتين من سلالات *Bt* المكونه للجراثيم والموجبة لصبغة جرام. حيث تعتبر المادة البروتينية السامة المعروفة بـــ ICP (Insecticidal crystal protein) من Btk وهى مادة سامة متخصصة ضد الحشرات القشرية. وحتى الآن لم ينتج عن هذه المادة السامة أى سمية على الإنسان والفقاريات الأخرى . وعلى ذلك فلقد تم استخدام المنتجات البكتيرية منذ فترة طويلة وهذا الاستخدام لازال يعتبر محدوداً للغاية ، ويرجع هذا إلى التكلفة المرتفعة والانخفاض الشديد فى خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ، الأمر الذى يتسبب فى زيادة معدلات الرش بهذه المبيدات الميكروبية .

فلقد تم هندسة العديد من النباتات وراثياً بجين Cry 1A من خلايا بكتريا الباسيلس ثيرونجنسز لإنتاج نباتات مقاومة للعديد من الحشرات القشرية ، ومع ذلك فإن الجينات المنقولة للنباتات والتى تنتج المادة البروتينية السامة النشطة قد حدث لها تعبير وراثى فى نباتات البطاطا ، القطن ، الدخان ، الذرة ، الأرز. ولقد تبين أن استخدام المنطقة الأصلية التى تقوم بإنتاج الدلتا إندونوكسين بروتين والتى تتميز بمحتوى مرتفع من القواعد النيتروجينية أدنين – ثايمين (A-T) أظهرت أنه يوجد انخفاض غير عادى فى تعبيرها الوظيفى فى النباتات. بينما تبين أن التحور الوراثى فى هذه المنطقة لزيادة تتابعات ومحتوى السيتوسين – جوانين فيها (G-C) قد تسبب فى زيادة ملحوظة جداً فى التعبير الوظيفى لهذه المنطقة نحو إنتاج المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات. مما يدل على أن زيادة تتابعات G-C فى منطقة جين الدلتا إندوتوكسين بروتين على حساب تتابعات A-T سوف تؤدى إلى زيادة إنتاج هذه المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات .فلقد كانت أول خطوة فى اتجاه تكوين نباتات من البطاطس مقاومة للحشرات أجريت لمحاولة نقل جين Cry IA(a) نقلاً مباشراً بواسطة منطقة Promoter فى فيروس تبرقش القرنبيط

Cauliflower من خلال التحول الوراثى بواسطة الأجروباكتريم. وقد أعطت نباتات البطاطس المحولة وراثياً نتائج جيدة فى مقاومة النباتات للحشرات القشرية للحد نسبيًا من أخطار المبيدات الحشرية الكيماوية .

دور إنزيم الشيتينيز في تحسين كفاءة المبيدات الحيوية للآفات لترشيد استخدام المبيدات والحد من تلوث البيئة :

يلعب إنزيم الشيتينيز Chitinase دوراً أساسياً فى عملية التحلل البيولوجى للشيتين Chitin ، الشيتين عبارة عن بوليمر من 1, 4- β- N- Acetyl -D- Glucosamine. وبالرغم من هذا فإن إنزيم الـ Chitinase وناتج تحلل الشيتين يتم استخدامهم فى صناعة الأغذية ، الأدوية وفى مجال الزراعة. ففى مجال الزراعة يستغل نشاط إنزيم الـ Chitinase في المكافحة الحيوية ، للفطريات الممرضة للنباتات ؛ ولذا فإنه يعتبر مبيداً حيوياً مضاداً للفطريات ذا كفاءة عالية. ونظراً لمقدرة وكفاءة إنزيم Chitinase فى المكافحة الحيوية ، لذا فقد تم عزل هذا الجين وتركيبه فى خلايا البكتريا من خلال استحداث تراكيب وراثية جديدة من البكتريا تحتوى على هذا الجين ومن ثم استخدامها فى المكافحة الحيوية ، وكذلك فقد أمكن استخدام جين Chitinase فى إنتاج نباتات محولة وراثيا بهذا الجين ومقاومة للفطريات .

وتجرى طرق عزل البكتريا المحتوية على جين Chitinase من الأنظمة المائية التى تأخذ اللون الأسود وباستخدام بيئة الأجار الإنتخابية المحتوية على Chitin. وتستطيع معظم النباتات الراقية أن تقوم بتخليق مجاميع من البروتينات المرتبطه بعملية الإصابة Pathogenesis-related (PR) proteins وذلك عندما يحدث للنباتات إصابة بالمسببات المرضية ، ولذا فإن Chitinase يعتبر واحداً من هذه البروتينات ويقوم بتكسير الرابطة ١ ، ٤ من البوليمر N-acetyl -D-glucosamine للشيتين. حيث إن الشيتين يعتبر مكوناً أساسياً فى الجدار الخلوى للعديد من الفطريات بينما يلعب الشيتينيز دوراً أساسيًا فى الحماية من المسببات المرضية الفطرية. وفى السنوات الحديثة أظهرت النباتات المتحولة وراثيا من الدخان ، الراى ، الأرز مستويات مختلفة من نشاط إنزيمات Chitinases وذلك من خلال إدخال Chitinase gene لخلايا هذه النباتات لزيادة مقاومتها للأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات، وقد تم أيضا حديثاً إدخال جين Chitinase من الأرز لنباتات القمح وقد حدث لهذا

الجين تعبير وظيفى فى نباتات القمح وهذه النباتات المحورة وراثياً من القمح سوف تصبح مقاومة للفطريات .

فى إطار المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام المبيدات الميكروبية فإنه يوجد أيضاً Chitinase gene فى سلالة *Bacillus licheniformis* والتى تقوم بإنتاج كميات كبيرة جداً من إنزيم Chitinase التى يقوم بتحليل Chitin • والشيتين Chitin هو عبارة عن سلسلة طويلة Homopolymer من مادة الإن أسيتايل جلوكوز أمين يوجد فى كيوتيكل الكائنات البحرية من الفقاريات ، الهيكل الخارجى للحشرات ، الجدار الخلوى للفطريات • بينما لا يوجد فى الفقاريات والكائنات النباتية ولذلك فإنه يعتبر مبيداً حيوياً ذا خاصية إنتخابية حيث يعمل ضد بعض الكائنات ولا يعمل ضد البعض الأخر ، ولذلك فإن إنزيم Chitinase هو الذى يقوم بتحليل الشيتين ، ولقد أصبح له إهتماماً خاصاً فى مكافحة كل من الفطريات التى تسبب الأمراض النباتية وكذلك الآفات الحشرية .

ولقد أوضحت دراسات عديدة أن إنزيم Chitinase يتسبب فى زيادة معدل موت الحشرات بفعل المبيد الحيوى *Bt* ؛ ولذلك فإن تطبيق استخدام هذا الإنزيم ضمن تحضيرات المبيد الميكروبى *Bt* يؤدى إلى اتصال جيد وأفضل للـــ *Bt* مع الغشاء الخلوى للقناه الهضمية للحشرات ؛ ولذا فإن استخدام مثل هذه المبيدات سوف تكون مفيدة جداً فى القضاء على صفة المقاومة الموجودة عادة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt* • وعلى سبيل المثال فإن أخطر الآفات الزراعية وهى حشرة دودة البنجر *Spodoptera exigua* يمكن مقاومتها بواسطة مبيد *B.t. aizawai (B.t.a)* وهذا يتطلب استخدام جرعة عالية من هذا المبيد الميكروبى ، وذلك من خلال نقل جين Chitinase من B. licheniformis إلى B.t.a وهذا العمل يتطلب إجراء حصر وانتخاب لسلالات الباسيلس المختلفة والتى تتميز بإنتاج مرتفع من إنزيم Chitinase، ثم اختبار كفاءة Chitinase المنتج من السلالة العالية الإنتاج نحو مقدرته على تعزيز الكفاءة السمية لسلالات Bta ضد حشرة ديدان البنجر *S. exigua* وذلك قبل أن يتم نقل هذا الجين لسلالات Bta• وأخيراً يتم نقل الجين إلى سلالات *Bta* ومن ثم اختبار السلالة المحورة وراثياً نحو التحسين الذى طرأ على كفاءتها السمية ضد حشرة ديدان البنجر *S. exigua*•

لذلك يمكن اعتبار إنزيم Chitinase مفيدا لتحسين كفاءة المبيدات الميكروبية المستخدمة فى مكافحة الآفات. وفى الدراسة التى أجراها Tantimaranich عام ١٩٩٧ بقسم الميكروبيولوجيا الإكلينيكية بكلية الطب والتكنولوجيا بجامعة ماهيدول بتايلاند نحو تحسين الكفاءة السمية لسلالات *Bt. aizawa* بإدخال الجين الخاص بإنتاج Chitinase لهذه السلالات، حيث قام بدراسة إنتاج وتعبير الجين المنتج للإنزيم فى ٢٠٠ عزلة من سلالات *Bacillus* ؛ وجد أن سلالة B. licheniformis TP-1 قامت بإنتاج أعلى كمية من الإنزيم تحت درجة pH القلوى جدا وهذا على مستوى ٦٨ عزلة منتجة لإنزيم Chitinase. ولذا فإن إنزيم Chitinase من السلالة TP-1 قد تم استخدامه مع السلالة *Bta* فى صورة مختلطة لمكافحة يرقات حشرات دودة البنجر. وقد اتضح من استخدام ١٠ مللى من وحدات هذا الإنزيم أن قيمة الجرعة المميته لـــ ٥٠% من الحشرات بواسطة *Bta* قد انخفضت بواقع ٧,٦ ، ١٣,٨ ، ١٥ مرة خلال الأيام ٣ ، ٥ ، ٧ على الترتيب ، مقارنة باستخدام *Bta* بمفردها. وبالإضافة إلى هذا فإن خلط ١٠ مللى من وحدات إنزيم *Chitinase* +*Bta* بالجرعة المميته قد أعاقت نمو وتطور اليرقات.

وتعتبر خلايا *E. coli* المتحولة وراثياً بواسطة الجين المنتج لإنزيم Chitinase من السلالة TP-1 أنتجت أيضاً العديد من إنزيمات Chitinases وبكميات مختلفة. ولذلك فإنه يمكن الإستفادة من جين Chitinase بنقله لخلايا Bt لتدعيم كفاءتها فى برامج المكافحة الحيوية للآفات الحشرية والفطريات بالتالى. حيث إن استخدام طرق الهندسة الوراثية فى نقل جين الدلتا إندوتوكسين بروتين من خلايا Bt ،وكذلك نقل جين Chitinase gene من خلايا *B. lichenformis TP-1* لخلايا النبات سوف يزيد من كفاءة هذه النباتات فى مكافحة الآفات التى تصيب الجذور والسيقان والثمار ؛ الأمر الذى سوف يترتب عليه عدم استمرار بقاء مثل هذه النباتات المحورة وراثيا بجينات بكتيرية كعوائل لمثل هذه الآفات ، وهذه يتطلب ضرورة وضع هذه النباتات تحت الملاحظة والمتابعة المستمرة للتأكد من عدم وجود أى تفاعلات حساسية أو آثار جانبية قد تنتج عن استخدامها ، حيث إن النباتات التى قد تنتج عنها مثل هذه الآثار أو التفاعلات يتم استبعادها فوراً لما قد ينتج عنها مستقبلاً من أضرار صحية. وبناء على ذلك فإن النباتات المحورة وراثياً يجب أن تتوافر فيها وسائل الأمان الحيوى وألاّ يترتب على إحداث التعديلات الوراثية فيها أيه أضرار أو آثار جانبية وإلا فقدت أهميتها الاقتصادية.

ومع هذا تتميز عملية التحور الوراثى للنباتات بجين Chitinase بجانب جين *Bt* بأنها سوف تعمل على عدم إمكانية تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المعدلة وراثياً بهذه الجينات معاً ، على العكس مما لو كانت النباتات محورة فقط بجين *Bt* والتى يمكن أن توجد إمكانية فى تكوين صفة المقاومة فى الحشرات ضد هذه النباتات المحورة بجين واحد.

ولقد أدت كل من عملية استخدام النباتات القابلة للإصابة بالمسببات المرضية واستخدام التسميد الأزوتى فى الزراعة الحديثة معاً إلى زيادة قابلية النباتات للإصابة بالأمراض ، الأمر الذى أصبحت معه عملية مكافحة الأمراض النباتية تعتمد أساساً على استخدام المبيدات الفطرية لمكافحة المدى الواسع من الأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات التى تصيب المحاصيل الحقلية. وقد ورد بتقرير منظمة حماية البيئة بالولايات المتحدة الأمريكية أنه فى الولايات المتحدة الأمريكية وحدها تحدث سنويا ٣٠٠٠ – ٦٠٠٠ حالة سرطان ناتجة عن بقايا المبيدات الحشرية فى الأطعمة ، حوالى من ٥٠ – ١٠٠ حالة تنتج عن التعرض المباشر للمبيدات الحشرية أثناء الرش ، وهو الأمر الذى جعل الحكومات فى العديد من الدول تحاول التخلى عن رش المبيدات الكيماوية على المحاصيل الحقلية وذلك لتأثيراتها الضارة على البيئة وعلى نمو النباتات وعلى جودة المنتجات الزراعية ؛ ولذا فقد أجريت دراسات عديدة لمحاولة التغلب على هذه المشكلة التى تهدد صحة المواطنين والبيئة من خلال استبدال المبيدات الحشرية الكيماوية بطرق أخرى آمنة على البيئة ، وتعتبر عملية المكافحة الحيوية للأمراض النباتية هى جزء من حل مشكلة استخدام المبيدات الكيماوية للإقلال من الخسائر المتسببة عن الأمراض التى تصيب النباتات، حيث إن كفاءة المكافحة الحيوية لم يكن متوقعاً أنها تساوى كفاءة المبيدات الفطرية الممتازة ، بل أظهرت بعض نظم المكافحة الحيوية كفاءة عالية جداً فى المكافحة الحيوية للفطريات.

ومن الأنظمة ذات الكفاءة فى المكافحة الحيوية لمسببات أمراض النباتات هى عملية التنافس التى تحدث فى منطقة الريزوسفير المحيطة بجذور النباتات بين كل من الفطريات والبكتريا من خلال عملية التضاد والتى لها المقدرة على الاستجابة لحث عملية النمو من خلال إنتاج العوامل المنبهة لنمو النباتات لتقوى على مهاجمة المسببات المرضية وتهرب من حدوث الإصابة. والتقدم الكبير الذى حدث فى الاونة الأخيرة فى المكافحة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة كان استجابة

مباشرة للاتجاهات الحديثة فى تقنيات الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية للنباتات والكائنات الحية الدقيقة والتى من خلالها أمكن تطويع بعض الجينات لتعبر عن نفس آدائها الوظيفى فى عملية المكافحة الحيوية مثل عملية إنتاج نباتات متعدلة وراثيا بجين Delta endotoxin encoding gene المنقول من خلايا *Bacillus thuringiensis* للنباتات بغرض مكافحة الحشرات. ومن عوامل المكافحة الحيوية المسجلة الآن هى ما يلى :

١- *Agrobacterium radiobacter* ضد الخدوش القمية وتستخدم فى الولايات المتحدة وأستراليا ونيوزيلندا.

٢- *Pseudomonas fluorescens* ضد البثرات البكترية وتستخدم فى أستراليا.

٣- *Pseudomonas fluorescens* وتستخدم ضد أمراض البذور فى الولايات المتحدة الأمريكية.

٤- *Peniophora gigantea* ضد *Fommes annosus* فى المملكة المتحدة.

٥- *Pythium oligandrum* ضد *Pythium spp.* فى روسيا.

٦- *Trichoderma viride* ضد أمراض الخشب فى أوربا.

٧- *Trichoderma spp.* ضد أمراض الجذور فى روسيا.

٨- *Fusarium oxysporiun* ضد *Suarium oxysporum* فى اليابان.

٩- *Trichoderma harzianum* ضد أمراض الجذور فى الولايات المتحدة.

١٠- *Gliocadium virens* ضد أمراض البذور فى الولايات المتحدة الأمريكية.

١١- *Trichoderma harzianum / polysporum* ضد تسوس الخشب فى الولايات المتحدة الأمريكية.

ومع ذلك تعتبر المبيدات الحيوية الميكروبية المضادة للحشرات ومقاومة العوائل النباتية للحشرات والمسببات المرضية طرقاً بيئية آمنة عادة تستخدم لحماية المحاصيل الحقلية. وعلى سبيل المثال إنتاج النباتات لوسائل الدفاع البروتينية تعتبر مسئولة جزئياً عن المناعة المكتسبة فى النباتات من خلال استحداث صفة المقاومة بها عن طريق استخدام الهندسة الوراثية فى نقل إنزيم Chitinase لخلايا النباتات ، هذا الإنزيم الذى بدوره يقوم بتحليل الشيتين هو مادة عديدة السكريات توجد فى

الهيكل الخارجي للحشرات وفي القناه الهضمية، ويكون تعبير هذا الجين في خلايا النبات استجابة مباشرة لتغذية الحشرات على هذه النباتات أو عند تلقيحها بالمسببات المرضية من الفطريات والبكتريا والفيروس ؛ ولذلك فإن هذه تعتبر مناعة مكتسبة في النباتات، ويشبه التركيب العام لجين Chitinase الموجود في الحشرات ؛ الجينات الأخرى الموجودة في الكائنات ذات الأنوية الحقيقية بينما يعتبر أكثر تعقيداً عن الجينات الأخرى المشابهة له الموجودة في النباتات.

لهذا فإن العمل الحيوي يعتبر ذات أهمية خاصة متميزة في صناعة الزراعة من خلال المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية حيث أصبحت منتجات المكافحة الحيوية الآن تعزز من صحة النباتات ، وتزيد من الإنتاج النباتي وجعلت هناك أماناً في استهلاك السلع الغذائية وفي العمل الزراعي ، الأمر الذي جعل الشركات التي تعمل في مجال Biocontrol أصبحت تعتمد في عملها على الطبيعة واستبعدت استخدام المبيدات الكيماوية وإنتاجها وعملت على الحد من الأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات وخاصـة التي تصيب الجذور ، فلقد أصبحت السلالة T-22 من *Trichoderma harzianum* ذات كفاءة عالية جدّاً في مكافحة أمراض الجذور المتسببة عن الفطريات وأدت إلى الإقلال من استخدام المبيدات الكيماوية الفطرية وقد قامت منظمة حماية البيئة بالولايات المتحدة على الفور بتسجيل هذه السلالة بغرض استخدامها في المكافحة الحيوية ، وتستخدم منتجات هذه السلالة في صورة جراثيم يتم حقنها في التربة التي تستخدم في زراعات الصوب النباتية أو توضع مباشرة على البذور أثناء الزراعة. وفي تلك الفترة تبدأ الميكروبات في النمو على جذور النباتات وتتغذى على by-products الناتجة عن الجذور كناتج طبيعي لعملية نمو النباتات ، وفي الحال يبدأ الفطر المستخدم في المكافحة الحيوية بتطويق منطقة الجذور وقتل الفطريات الممرضة التي تحاول اختراق الجذور لتتغذى عليها . ويتم ذلك من خلال عدة طرق بعضها تلامس فسيولوجي وبعضها يتعلق بإنتاج الإنزيمات مثل Chitinase الذي يعمل على تكسير الجدار الخلوي للفطريات.

وفي هذا الإطار تستخدم جينات الترايكودرما والتي تتسبب في إنتاج البروتينات المضادة للفطريات في إنتاج نباتات محولة وراثياً بهذه الجينات لمكافحة الحشرات والأمراض النباتية. وقد اهتمت الشركات التي تعمل في مجال المكافحة الحيوية من خلال استخدام نواتج التعبير الجيني بنقل هذه الجينات لخلايا النباتات .

وقد أظهرت النباتات المعدلة وراثياً بهذه الجينات درجات عالية من المقاومة ضد الهجمات الفطرية ، وقد تسلمت هذه الشركات حديثاً جينات من *Streptomyces* والتى تعزز من مقاومة النباتات للحشرات عندما يتم حقنها بداخل الخلايا النباتية لإحداث تحور وراثى للخلايا بهذه الجينات. ولقد تأسست شركة Bioworks فى يونيو سنة ١٩٩٣ ومقر هذه الشركة جنيف ونيويورك ولها العديد من المكاتب التى تقدم تسهيلات فى مجال الأبحاث العلمية المرتبطة بعمل الشركة.

بروتينات الحماية النباتية :

مثلما يحدث فى أجسامنا فإن النباتات تمتلك ميكانيكات بناء الحماية عندما يحدث لها إصابة ، وهذه تتمثل فى إنتاج البروتينات المرتبطة بالإصابة Pathogensis-related (PR) proteins وهذه البروتينات يتم استحداثها وتبدأ فى العمل فى الوقت الذى يوجد فيه المسبب المرضى أو الحشرة على السطح الخارجى للنبات، وعندما تبدأ الحشرة فى التغذية على النبات فإنها تعمل على تحليل المركبات النباتية فى اللعاب وتعمل على تحويلها إلى بروتينات الحماية وهنا يحدث خلل فى وظائف الخلايا النباتية عند تغذية الحشرات والتى بدورها تدفع بروتينات الحماية على الظهور. فالبروتينات والكربوهيدرات المفرزة بواسطة المسببات المرضية من الفطريات تعمل على بدأ تكوين نظم الحماية فى النباتات.

ولقد وجد العالم Mayer بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة أن النباتات تحتوى على بروتينات الحماية وهذه البروتينات وجدت فى جنس Citrus الموالح. وفى هذا الإطار وجد Mayer وزملاؤه مجموعتين من الإنزيمات فى جنس Citrus هما Chitinase, glucanases حيث وجدوهما فى الجذور والأوراق والثمار والأزهار مما يجعل هذه النباتات نشطة فى مكافحة الحشرات والفطريات. ولتدعيم هذه المعلومات بصورة أكبر عن نظم الدفاع فى النباتات فإن هيئة بحوث إنتاج الموالح فى فلوريدا بالولايات المتحدة قامت بتدعيم أبحاث وزارة الزراعة الأمريكية ماديّاً. فإذا تم إنتاج نباتات بنظم دفاع ذاتية فإنها سوف تنمو أفضل وبتكاليف أقل من خلال الحد من استخدام المبيدات الفطرية والحشرية ، الأمر الذى سوف يترتب عليه حماية البيئة من التلوث.

المنتجات الدفاعية الثلاثة الحديثة :

هذه المنتجات الدفاعية المسجلة فى فلوريدا بالولايات المتحدة الأمريكية عبارة عن ثلاثة مركبات هى: Key Plex 250-DP, 350-DP and 445-DP وهذه المركبات تعتبر مبيدات فطرية نشطة جداً ضد نوعين من الأمراض التى تسبب وباء أو طاعون الموالح Plague citrus هما البقع الشحمية Greasy spot التى يسببها *Cosphaerella citri* ، وسقوط البراعم الثمرية التى يسببها *Colletotrichum acutatum*• وهنا أود أن أشير إلى أن أراضى فلوريدا غنية بالكالسيوم وفقيرة فى محتواها من المادة العضوية وتحتاج إلى إضافة العناصر الغذائية للتربة عند الزراعة فيها• وقد أنتج معمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة منتجات تحتوى على العناصر الغذائية الصغرى للنبات ويتم استخدامها فى تغذية النباتات لزيادة معدل نموها ولجعل النباتات صحيحة ، وقد استخدم علماء وزارة الزراعة الأمريكية هذه المنتجات وأضافوا إليها بعض المركبات التى تزيد من مقاومة النباتات بجعلها تنتج معدلاً أعلى من البروتينات المرتبطة بالإصابة المرضية ، ويمكن استخدام هذه المنتجات المحسنة عن طريق الرش على النباتات أو بحقنها فى التربة لحماية محصول الطماطم وأشجار الموالح وقد أوضح العالم Butler بمعمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة أن Key Plex 350-DP قد تسبب فى الإقلال من سقوط البراعم الزهرية من على الأفرع بمعدل يصل لحوالى ٨٠% مع العلم بأن Key Plex أيضا يعتبر ذا كفاءة عالية ضد الذبابة البيضاء والتى عندما تتغذى على المحاصيل فإنها تنقل إليها الإصابة الفيروسية والتى تؤثر بشدة على نباتات الطماطم•

ومعاملة نباتات الطماطم بالـــ Key Plex 350-DP تؤدى إلى انخفاض عدد الحشرات الكاملة والعذارى والبيض للذبابة البيضاء ؛ ولذا فإن الذبابة البيضاء تفضل النباتات غير المعاملة بالـــ Key Plex ويتم استخدام منتجات Key plex على الموالح ، الفول البلدى ، الطماطم وقد تم اختبارها على الليمون ، الموز ، القطن ، أزهار الفلفل• والاختبارات المستقبلية سوف تشمل القرعيات ومعظم محاصيل الخضر والفاكهة• وقد تم اختبار Key plex 350-DP على الموز فى فلوريدا بالولايات المتحدة وفى أمريكا الوسطى ضد كل من Yellow and black sigatoka فوجدوا Butler انخفاضاً شديداً فى الإصابة بكلا المرضين ، واللذين كانا يسببا مشكلة كبيرة جداً فى أمريكا الوسطى• ومع ذلك فلقد تم استخدامKey plex 350-DP

على ثلاثة أنواع رئيسية من زراعات الموز فى الولايات المتحدة وذلك لأن معالجة أمراض Sigatoka مكلفة جداً من الناحية المادية باستخدام المبيدات الفطرية والتى لا تكون كفائتها ١٠٠%٠ هذه المنتجات الطبيعية التى تستخدم فى عمليات المكافحة الحيوية مثل منتجات Key plex لا يستلزم الأمر تسجيلها بواسطة هيئة حماية البيئة، علما بأن منتجات Key plex ليست سامة للإنسان أو للحيوان أو للنبات أو للحشرات مقارنة بوسائل التسميد الكيماوى الشائعة الإستخدام كما يقول Butler٠ وقد استهدف عمل معمل بحوث البساتين بالولايات المتحدة حث النباتات على إنتاج مركبات أكثر لمقاومة الأمراض وطرد الحشرات٠

فمنذ حوالى ٦ سنوات تعمل وزارة الزراعة الأمريكية على تعريف وتنقية بروتينات الحماية النباتية فى الموالح ؛ حيث إن عملية تنقية هذه البروتينات سوف تمكنا من تصنيفها وتحديد تركيبها ونشاطها لأنه يجب معرفة موقع هذه البروتينات فى تركيب النبات ، فإذا استطعنا أن نتوقع إمكانية تطويع هذه البروتينات فإننا سوف نتعرف على طبيعة وكيفية تكوينها ؛ ولذا فقد تم عزل الجينات المنتجة لهذه البروتينات والاحتفاظ بها فى بنوك الجينات لتكون شائعة الاستخدام والتداول٠ ولذا فإنه إذا حصلنا على هذا الجين وحقناه داخل الخلايا النباتية التى لا تحتوى عليه فإنه سوف ينتج عن ذلك نباتات معدلة وراثيا بالجين المنقول إليها والذى سوف يعبر فيها عن أدائه الوظيفى نحو إنتاج كميات كبيرة وفى أماكن وأزمنة مختلفة من بروتينات الحماية النباتية٠ وأما الخطوة الثانية فى هذا الاتجاه سوف تكون مركزة على إمكانية تطويع مستويات المركبات الخاصة بالحماية فى النباتات بدون الحاجة إلى إنتاج نباتات معدلة وراثيا والتى تأخذ عدة سنوات حتى يتم الحصول على هذه النباتات المطلوبة خاصة فى أشجار الموالح ، وحينئذ سوف لا يتم الحصول على ثمار منها لمدة ٤ إلى ٥ سنوات٠ وحينئذ يجب أن ننظر إلى المركبات الكيماوية التى تستخدم فى حماية النباتات من مهاجمة الحشرات علما بأن النتائج الجيدة التى قد تم الحصول عليها كانت من خلال استخدام (BTH (Benzothiadiazole وهو مادة كيماوية غير سامة تنتجها شركة نوفارتس Novartis ولا ينتج من استخدامها أى أضرار على الإنسان أو النبات أو الحيوان٠ وقد أوضحت معاملة حقول الطماطم بالـــBTH حدوث انخفاض يقدر بحوالى ٣٠% من الإصابة بالـــ Leafminers مقارنة بالحقول غير المعاملة ، حيث إن محصول الطماطم يستغرق فترة نمو تتراوح مابين ٢- ٣ شهور ، وهنا يجب أن تتم معاملة النباتات

وهى فى المشتل قبل نقلها للحقل المستديم بأسبوع ، بعد ذلك يتم رشها بواقع مرة كل ثلاثة أسابيع. وقد عملت شركة Novartis أن تكون تركيبة BTH مناسبة لحماية النباتات من الحشرات والفطريات والبكتريا.

العلامات المستخدمة بعد الحصاد :

تعمل الخضر والثمار بعد جمعها على بناء ميكانيكات حماية مختلفة بعد الحصاد وذلك طبقاً للتقرير الوارد عن وزارة الزراعة الأمريكية ، وتتمثل هذه العلامات فيما يلي :

١- عندما نجد إنزيم Chitinase فى ثمار الموالح فإن هذا يعنى أن هذا المركب وجد لحماية الثمار ليعمل على تكسير الشيتين Chitin الذى لا يوجد فى الموالح ويوجد فى المسببات المرضية من الفطريات والحشرات التى تهاجم الثمار ، حيث يتكون الهيكل الخلوى فى الحشرات من الشيتين ويتكون الجدار الخلوى أيضا فى الفطريات من الشيتين ، ويتكون إنزيم Chitinase لحماية الثمار عندما تكون نشطة ، وذلك عندما يتم مهاجمة الثمار بالمسببات المرضية المختلفة.

٢- ركز عالم فسيولوجيا النبات McCollum فى عمله على إنزيمات Glucanases التى تقوم بتكسير Glucans ، وهذه الإنزيمات تعتبر مركبات مضادة للفطريات وتوجد فى الموالح. وقد قام McCollum بتنقية البروتين المثبط للعديد من إنزيمات galacturonase (PGIP) من قشور الجريب فروت Grapefruit peel . وهذا البروتين يلعب دوراً أساسياً فى المقاومة للفطريات. ففى أثناء إصابة الفطريات للثمار ينتج عنها إنزيمات Pectinases ، حينئذ تقوم البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase التى تنتجها الثمار بتثبيط عملية إنتاج Pectinase مما يعمل بدوره على حماية الثمار من الفطريات ووقف نموها.

٣- أوضح Mayer أن البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase تعمل على زيادة مقاومة النباتات للحشرات حيث تنتج الحشرات أيضا إنزيم Pectinase عندما تتغذى على الثمار ؛ ولذا فإنه إذا تمكنا من إنتاج نباتات محورة وراثيا من الموالح بالجينات التى تقوم بإنتاج هذه البروتينات المثبطة لإنزيم Galacturonase ، Polygalcturonase inhibitor protein ((PGIP) فإنه سوف تكون لدينا فرصة ممتازة لإنتاج نباتات مقاومة للحشرات.

٤- ومع هذا تعمل إنزيمات Chitinases التى مصدرها الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية مثل فطر *Trichoderma harzianum* على تثبيط إنبات الجراثيم وتثبيط نمو الهيفات للفطريات الممرضة للنباتات مثل *Uncinula necator, Botrytis cinerea* ، ومع ذلك فقد وجد Kikkert وزملاؤه عام ١٩٩٨ أن مزارع الأجنة المحورة وراثيًا بجين Endochitinase من فطر *Trichoderma* أن حوالى ٤١% من نباتات Merlot ، ٥٥% من نباتات Chardonnay المنتخبة قد أظهرت زيادة فى نشاط إنزيم Chitinase تتراوح مابين ١٠ – ١٠٠% مقارنة بالنباتات فى تجربة المقارنة غير المتحولة وراثيًا ، ولذا فإن هذه النباتات المحورة وراثياً تتميز بمقاومتها للأمراض النباتية والحشرات.

ولذا فقد تم منذ أكثر من ستون عاماً دراسة السلالات المستخدمة فى المكافحة الحيوية من جنس *Trichoderma* وذلك لتطوير هذه الأداة البيولوجية لتتكامل مع المبيدات الكيماوية الفطرية المستخدمة فى مكافحة الأمراض النباتية ، حيث إن التأخر فى استخدام هذه الوسيلة البيولوجية فى المكافحة الحيوية كان يرجع إلى المعلومات القليلة المتاحة عن ميكانيكية فعلها فى مكافحة الفطريات داخل الكائن الحى.

ومع هذا فإن الإنتاجية المنخفضة للنباتات تتحدد بواسطة مدخلات الإنتاج من الأسمدة الكيماوية والمبيدات الحشرية والتى تمثل فى مجملها عوامل ضغط على النباتات تتسبب فى الفقد الحادث فى الإنتاج وتؤثر على زيادة الإنتاج وجودة المنتج النهائى ؛ ولذا فإن عملية التحول الوراثى للمحاصيل بواسطة الجينات المقاومة للحشرات من *Bacillus thuringiensis* قد تم استحداثها فى الزراعات بالولايات المتحدة الأمريكية ، كندا ، الصين ، أستراليا. بينما يوجد انخفاض كبير فى إستخدام هذه التكنولوجيا لتحسين إنتاجية المحاصيل تحت الظروف البيئية القاسية التى توجد فى المناطق الإستوائية ، وهذه المناطق هى التى تعتبر بحاجة ماسة جدًا وحرجة لإدخال هذه التكنولوجيا المتقدمة فى زيادة إنتاج الغذاء بهذه المناطق. علماً بأن إدخال هذه التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة والغذاء تتطلب تنظيماً حيوياً آمناً وعرضاً جيداً للنتائج التى يتم الحصول عليها بفعل إدخال المحاصيل المهندسة وراثيًا فى مجال الغذاء.

زيادة التعداد السكانى وعدم الأمن الغذائى :

طبقا لتقرير الأمم المتحدة فإن التعداد السكانى فى العالم سوف يزيد بحلول عام ٢٠٢٥ بواقع ٢٥% ليصل إلى ٧,٥ بلايين ، منهم تقريباً ١,٢ بليون يعيشون فى مناطق الفقر المطلق ، حوالى ٨٠٠ مليون يعانون من عدم الأمن الغذائى مما يتسبب فى مشاكل صحية وفقدان مقدرة الإنسان على العمل فى الدول النامية ، ويرجع ذلك بصفة أساسية إلى انخفاض الإنتاج وعدم الأمن الغذائى وضعف التغذية. ومع هذا فإن مساحة الأرض المتاحة للإنتاج الغذائى يحدث فيها انخفاض عاماً بعد عاماً. وهذا الانخفاض يكون أكبر فى الدول النامية مقارنة بالدول المتقدمة ، فلقد كانت مساحة الأرض المتاحة فى عام ١٩٩٠ بالنسبة للفرد الواحد هى ٠,٢٥ هكتار فى كل من المكسيك ، الإكوادور ، نيجيريا ، أثيوبيا إلى أقل من ٠,١٠ هكتار للفرد فى كل من مصر ، كينيا ، بنجلاديش ، فيتنام ، الصين ، وبحلول عام ٢٠٢٥ فإن المساحة التى سوف تكون متاحة للفرد ستكون أقل من ٠,١٠ هكتار فى بعض الدول مثل بيرو ، تنزانيا ، باكستان ، إندونسيا ، الفلبين. وسوف يترتب على انخفاض وحدة المساحة المتاحة للفرد انعدام الأمن الغذائى وإنخفاض نصيب الفرد من الإنتاج خاصة فى الدول النامية. فلقد حدثت زيادة فى إنتاج الحبوب فى الفترة من ١٩٥٠ إلى ١٩٨٠ ، ومع هذا فإنه لازال فى الغالب إنتاج الحبوب ثابتاً. كما يلاحظ أن معدل الزيادة فى إنتاج الغذاء قد حدث له انخفاض يقدر بحوالى ١% فى عام ١٩٩٠ مقارنة بزيادة قدرها ٣% فى عام ١٩٧٠ . بينما فى الهند يكاد يكون إنتاج الحبوب ثابت فيما عدا المناطق التى يكون فيها الإنتاج يتم بواسطة الرى والتى تحدث فيها زيادة جوهرية فى الإنتاج الغذائى.

وبحلول عام ٢٠٠١ أصبحت هناك حاجة ملحة لزيادة الإنتاج البقولى من ١٥ مليون طن فى عام ١٩٩٥ إلى ٢٠ مليون طن ، اللبن من ٦٤ إلى ٩٢ مليون طن ، اللحوم الحيوانية من ٧ إلى ١٧ مليون طن.

الحاجة إلى إنتاج النباتات المهندسة وراثياً :

تعتبر إحدى طرق زيادة الإنتاج الزراعى هى الإقلال من الفاقد فى الإنتاج ، هذا الفاقد يقدر بحوالى ١٤% من الإنتاج الزراعى بوجه عام ، هذا بالإضافة إلى الحد من تكاليف الإنتاج المتعلقة باستخدام المبيدات فى مكافحة الآفات والتى تقدر بحوالى ١٠ بلايين دولار أمريكى سنوياً ، وهذا يصاحبه الأثر الضار المتبقى من

المبيدات ليس فقط على الأوراق بل أيضا فى الغذاء والذى بدوره يسبب أضراراً صحية على الكائنات غير المستهدفة من استخدام المبيدات وكذلك على البيئة المحيطة. فالحشائش والحشرات والأمراض وجد أنها تسبب خسائر فى الإنتاج تقدر بحوالى ٢٤٣,٤ بليون دولار أمريكى فى ٨ مواقع رئيسية لإنتاج المحاصيل فى العالم ، وهذه المواقع تمثل ٤٢% من المساحة الكلية المتاحة للإنتاج فى العالم وهذا من بين الإنتاج الزراعى العالمى الذى يقدر بمبلغ ٥٦٨,٧ بليون دولار.

وعلى مستوى الفقد السابق نجد الآتى :

- تتسبب الحشرات فى فقد يقدر بحوالى ٩٠,٤ بليون دولار فى الإنتاج.
- تسبب الأمراض فى فقد يقدر بحوالى ٧٦,٨ بليون دولار .
- بينما تتسبب الحشائش فى فقد يقدر بحوالى ٦٤,٠ بليون دولار .

ويقدر هذا الفقد فى الإنتاج الزراعى بحوالى ٥١% فى الأرز ، ٣٧% فى القمح ، ٣٨% فى الذرة ، ٤١% فى البطاطا ، ٣٨% فى القطن ، ٣٢% فى فول الصويا ، ٣٢% فى الراى ، ٢٩% فى البن. ولقد اتضح مدى خطورة الأمراض والحشرات اللذين كانا يسببان فقط ٥٢% من الفقر فى إنتاج القمح ، يسببان فقداً فى فول الصويا يقدر بـ ٥٨% ، ٥٩% فى الذرة ، ٧٤% فى البطاطا ، ٨٣% فى الأرز ، ٨٤% فى القطن.

وكما هو معلوم أن فقد الإنتاج الناتج عن الإجهادات البيئية مثل Biotic and abiotic stress يقدر بحوالى ١٥,٧٤ بلايين دولار أمريكى ، من هذا المبلغ يوجد فقد راجع للحشرات يقدر بحوالى ٣,١٧ بلايين دولار أما الفقد الراجع للأمراض النباتية فهو يقدر بحوالى ٤,١٢ بلايين دولار أمريكى ، أما الفقد الناتج عن الحشائش فهو يقدر بحوالى ١,١٤ بلايين دولار. ومع هذا فإن الفقد الناتج عن عوامل Biotic stress وحدها فهو يقدر بحوالى ٨,٤٨ بلايين دولار.

وفى هذا الإطار فإن استخدام المبيدات الكيماوية لمكافحة الآفات للإقلال من الفقد الناتج عن مهاجمة الحشرات للنباتات ولمكافحة الفطريات والحشائش فإنها تتسبب فى أضرار بيئية وتضر بالكائنات النافعة فى البيئة وغير المستهدفة من عملية المكافحة الكيماوية ، حيث إن وجود الأثر المتبقى للمبيدات فى أوراق النباتات وفى الأطعمة سوف يتسبب فى تلوث البيئة وفى أضرار صحية خطيرة ،

علما بأن استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات سوف يتسبب فى زيادة الضغوط البيئية على الكائنات بفعل زيادة معدلات التلوث البيئى ، الأمر الذى يتطلب ضرورة إدخال التقنيات الحديثة فى مجال الزراعة لإنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض لتحسين إنتاجية النباتات وللإقلال من الفاقد فى الإنتاج وللحد من تلوث البيئة بالكيماويات التى تستخدم فى مكافحة الأمراض والآفات• خاصة وأن العديد من الأنواع الحشرية والمسببات المرضية والحشائش قد تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات المستخدمة فى مكافحتها• فلقد وجد حتى عام ١٩٩٦ حوالى ٦٤٥ حالة مقاومة فى عدد كبير من الحشرات للمبيدات الحشرية وقد أوضحت أحدث تقارير المقاومة التى تكونت فى الحشرات للمبيدات ما يلى :

٢٥٠ حالة للـ Organophosphates•

١٥٦ حلة للـ Synthetic pyrethroids•

١٥٤ حالة للـ Carbamates•

٨٥ حالة لمركبات أخرى تشمل Chlorinated hydrocarbons•

وقد تبين أن حوالى ٨٥ نوع من الحشرات تكونت بها صفة المقاومة لأكثر من مجموعتين من المبيدات الحشرية ، وقد وجد أقصى عدد من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات فى تلك التى تهاجم محاصيل الخضر ، وقد وصل عددها إلى حوالى ٤٨ بالنسبة لمحاصيل الخضر ، ٢٥ فى تلك التى تهاجم بساتين الفاكهة ، ٢١ فى تلك التى تهاجم محصول القطن ، ١٥ فى تلك التى تهاجم محاصيل الحبوب •وعلى العموم فإن أقصى عدد من الحشرات التى تكونت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية شملت تلك التى تهاجم كل من القطن ، الخضر ، الدخان• وقد اتضح أن حشرة *Helicoverpa armigera* والتى تعتبر من أكثر الحشرات التى تهاجم كل من القطن ، البقوليات ، محاصيل الحبوب ، الخضر ، وقد ظهرت بها صفة المقاومة للعديد من المبيدات الحشرية التى تستخدم على القطن، الطماطم ، عباد الشمس ، العدس• أما الذبابة البيضاء التى تهاجم القطن فقد ظهرت بها صفة المقاومة للمبيدات الحشرية المستخدمة فى رش القطن ، والبامياء•

الخلاصة :

تتطلب عملية تكون صفة المقاومة فى الحشرات ضد المبيدات المستخدمة فى المكافحة استخدام جرعات مرتفعة من نفس المبيد المستخدم أو زيادة عدد المبيدات المستخدمة فى المكافحة، ولذلك فإن المزارعين غالباً ما يلجأون لخلط عدة مبيدات مع بعضها للإقلال من خطورة مهاجمة الحشرات للمحاصيل ، وهذا لا يترتب عليه فقط زيادة تكلفة المكافحة الحشرية بل أيضا يتسبب فى أضرار بيئية من خلال زيادة معدلات التلوث البيئى، ولذلك فإن استخدام تقنيات الهندسة الوراثية فى إنتاج نباتات مقاومة للآفات والأمراض تعتبر هى الوسيلة الأمثل للتخلص من مشاكل استخدام المبيدات فى كل من الدول المتقدمة والنامية على السواء ؛ ولذلك فإن الهندسة الوراثية تقدم لنا أدلة جيدة نحو تحسين الصفات الفردية للمحاصيل مثل المقاومة للأمراض وللحشرات ، حيث إن المقاومة للأمراض النباتية المتسببة عن الفطريات تعتبر من الصفات المرغوبة جدا ، والتوسع فى تطوير المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية قد أصبحا ضرورة حتمية فى الوقت الحاضر للتخلى عن إستخدام المبيدات الكيماوية وللإقلال من تكلفة الإنتاج وللحفاظ على صحة الإنسان والبيئة من التلوث ، خاصة وأنه من المتوقع أن يزداد تعداد سكان العالم من ٦,٥ بليون فى الوقت الحاضر إلى ٧,٥ بلايين فى عام ٢٠٢٥ ، ومعظم هذه التجمعات البشرية تعيش فى المناطق الريفية فى الدول النامية حيث يوجد الفقر ، نقص الغذاء، انعدام الأمن الغذائى وهى فى مجملها مشاكل رئيسية فى هذه المناطق،

الأسئلة :

١- ما أهمية الجين المنتج لإنزيم الشيتينيز فى دعم صفات المقاومة الحيوية فى النبات ؟

٢- ما علاقة زيادة تتابعات G - C على حساب تتابعات A - T بإنتاج وكفاءة المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات ؟

٣- بين هل يمكن القضاء على صفة المقاومة التى تتكون فى الحشرات ضد سلالات *Bt* ؟

٤- ما رأيك في دور إنزيم الشيتينيز فى تحسين كفاءة المبيدات الحيوية للآفات ؟

٥- اكتب ما تعرفه عن بروتينات الحماية النباتية ؟

٦- اذكر العلامات التى تظهر فى الثمار بعد الحصاد والتى تعد دليلا على ميكانيكيات الحماية ؟

٧- ما رأيك في أن عملية تطوير المكافحة الحيوية للآفات والأمراض النباتية أصبحت ضرورة حتمية فى الوقت الحالي ؟

٨- ما علاقة زيادة التعداد السكاني بانعدام الأمن الغذائي ولماذا أصبحت هناك حاجة لإنتاج النباتات المهندسة وراثيا ؟

٩- ما قيمة الفقد فى إنتاج الغذاء الناتج عن كل من الحشرات والأمراض والحشائش مقارنة بالفقد الناتج عن الإجهادات البيئية ؟

١٠- ما تأثير الرش المتكرر بالمبيدات على الحشرات مقارنة بدور الهندسة الوراثية فى دعم صفات المقاومة الحيوية فى النبات ؟

١١- أجب بنعم أم لا مع التعليل :

أ- إنزيمات Chitinases المنتجة بواسطة *Bacillus circulans* , *Serratia*, *Streptomyces* يتم تخليقها بواسطة العديد من الجينات، بينما العديد من الإنزيمات المنتجة بواسطة *Streptomyces, B. circulans, Alteromonas* يتم تخليقها بواسطة جين واحد ؟

ب- لم توجد حالات تكونت بها صفة المقاومة فى الحشرات ضد النباتات المهندسة وراثيا بجينات *Bt* بينما تكونت هذه الصفة فى حشرة السوس ضد سموم *Bt* تحت الظروف الحقلية ؟

ج- المادة البروتينية السامة من *Bt* لم تثبت أى سمية على الإنسان والفقاريات ؟

د- ترجع محدودية استخدام سموم *Bt* فى مكافحة الأفات للتكلفة المرتفعة وانخفاض خاصية استمرارها تحت الظروف الحقلية ؟

هـ- منطقة إنتاج المادة البروتينية السامة فى *Bt* تتميز بمحتوى مرتفع من A , T؟

و- التحور الوراثي فى منطقة إنتاج المادة البروتينية السامة *Bt* بزيادة محتواها من G , C ترتب عليه زيادة ملحوظة فى التعبير الوظيفي لإنتاج المادة البروتينية السامة المضادة للحشرات ؟

ل- يلعب الشيتينيز دوراً أساسياً فى الحماية من الأمراض الفطرية ؟

م- استخدام الشيتينيز مع تحضيرات المبيد الحيوي Bt يقضي على صفة المقاومة المتكونة فى الحشرات ضد مبيد سلالات *Bt* ؟

ن- يعمل الشيتينيز على تحسين كفاءة المبيدات الحيوية المستخدمة فى مكافحة الآفات ؟

ي- يترتب على استخدام الهندسة الوراثية فى دعم صفة إنتاج النباتات لوسائل الدفاع البروتينية تكوين مناعة مكتسبة فى النباتات لإستحداث صفة المقاومة بها؟

الفصل الثالث

الأهمية الاقتصادية للفطريات والبكتيريا وتحوراتها الوراثية

الأهداف : بنهاية هذا الفصل ينبغي أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قادرا على أن :

١- يدرك أنه بالرغم من أن بعض الميكروبات هى عوامل مسببة للمرض ، إلا أن غالبيتها مفيدة ، فهى تحلل الأنسجة الميتة ، وتعيد دورة العناصر ، وتساعد النبات على تمثيل النيتروجين من الهواء.

٢- يستعرض فكرة إنتاج البنسلين من فطر البنسيليوم كأول مضاد حيوي عرف ضد البكتيريا المرضية والذى استخلصه كل من الألمانى المهاجر إرنست تشين مع عالم الباثولوجيا الأسترالى هوارد فلورى واللذين كانا يعملان فى أكسفورد ، حيث استخلصا البنسلين من فطر البنسليوم نوتاتم .

٣- يستوعب ملاحظة ألكسندر فلمنج أثناء عمله فى عام ١٩٢٨ بمستشفى سـانت مارى بلندن والذى لاحظ أن عفناً هو عبارة عن فطر البنسليوم نوتاتم الذى لوث مزرعة لبكتريا عنقودية كروية تسبب عدوى الجلد ، وقد أطلق فلمنج على هذه المادة غير المحددة اسم البنسلين وهو مادة تهاجم البكتيريا .

٤- يعي أن مكتشف البنسلين هو السيد Alexander Fleming فى عام ١٩٢٩ لكنه لم يستغل حتى الحرب العالمية الثانية وأن الأهمية الكبيرة لهذه المادة هى أنها تمنع نمو البكتيريا بدون أن تكون سامة على الأنسجة الحيوانية .

٣- يستعرض مراحل التطور فى إنتاج فاكسينات شلل الأطفال .

٤- يفهم أهمية التعويق الوراثى لإنتاج إنزيم بوليجا لاكتويورونيز الذى يقوم طبيعياً بتحليل البكتين الموجود فى جدر الخلايا مما يجعل الفاكهة طرية، وذلك من خلال التدخل فى عملية استنساخ الجين بأن أدخلوا فى خلايا الطماطم قطعة مخلقة من DNA تحوى معنى مضاداً لعملية النسخ وهى قطعة صممت بحيث تلتصق بالـــ m-RNA الخاص بهذا الإنزيم مما يمنعه من عملية الترجمة وعدم تكوين الإنزيم بالتالي .

٥- يدرك أهمية الهندسة الوراثية فى مقاومة مسببات أمراض النبات البكتيرية والفيروسية.

٦- يتعرف على الفيروسات النباتية ووسائل انتقالها وطريقة تقسيمها على أسس وراثية .

٧- يعي نتائج Puntambekar et al. (1995) والذى وجد أن سلالات *B.t.* التى حدث بها اندماج للبروتوبلاست وصّلت نسبة الموت ليرقات دودة ورق القطن المعاملة بالهجن الناتجة من اندماج البروتوبلاست إلى ٧١,١% بينما كانت نسبة الموت لليرقات المعاملة بالسلالات الأبوية للـ *B.t.* هى ٦١,١% ، ٦٥,٠% مما يعكس مدى أهمية التحور الوراثى للخلايا الميكروبية من *B.t.* فى زيادة الكفاءة السمية للمبيد الحيوى المستخلص منها٠

المقدمة :

الميكروبات كائنات دقيقة لا ترى إلا باستخدام الميكروسكوب ، وهى موجودة فى كل مكان وضرورية للحياه وتحاط بنا بأعداد فلكية ، ويوجد ما يقرب من ١٠٠,٠٠٠ ميكروب فوق كل سنتيميتر مربع من الجلد٠ وعالم الميكروبات يشمل أعداداً هائلة من أنواع وسلالات مختلفة٠ ورغم أن بعض الميكروبات هى عوامل مسببة للمرض ، إلا أن غالبيتها مفيدة ، فهى تحلل الأنسجة الميتة ، وتعيد دورة العناصر ، وتساعد النباتات على تمثيل النيتروجين من الهواء٠ والميكروبات لها القدرة على التكاثر بسرعة أكبر كثيراً من الكائنات الحية الراقية ويحدث بها معدل سريع من الطفور منتجة أنواعاً متباينة لتستثمر التغيرات البيئية الملائمة لبقائها .

والإنسان عندما صنع الجبن والخبز والمشروبات الكحولية كان يستثمر هـذه الميكروبات منذ زمن بعيد٠ وقد بدأ العلماء فى بداية القرن العشرين فى اتخاذ طرق مدروسة أكثر لتسخير الميكروبات لصناعة مواد معينة٠ ففى أثناء الحرب العالمية الأولى كان الكيميائى الألمانى حاييم وايزمان مهاجراً فى ذلك الوقت فى مانشستر ، حيث أنشأ طريقة لإنتاج الأسيتون بواسطة بكتيريا كلوستريديوم أسيتو بيـوتيليكم ، والأسيتون مذيب مطلوب فى صناعة المفرقعات ، علماً بأن وايزمان هذا هـو أول رئيس لدولة إسرائيل ، ويقال أن اختراعه هذا قدمه ثمنا لوعد بلفور المشئوم٠

وفى أثناء الحرب العالمية الثانية أطلق الألمانى المهاجر إرنست تشين مع عالم الباثولوجيا الأسترالى هوارد فلورى واللذان كانا يعملان فى أكسفورد ، ثورة المضادات الحيوية بأن استخلصا البنسلين من فطر البنسليوم نوتاتم .

البنسلين أول مضاد حيوى :

كان ظهور البنسلين أحد التطورات الرائعة فى استخدام الميكروبات لإنتاج أدوية تنقذ الحياة. وقد حدث بأن كان ألكسندر فلمنج يعمل فى عام ١٩٢٨ بمستشفى سانت مارى بلندن، حيث لاحظ أن عفناً قد لوث مزرعة لبكتريا عنقودية كروية تسبب عدوى الجلد. وقد أمكن فيما بعد تحديد أن هذا العفن هو فطر بنسليوم نوتاتم، وقد اتضح أن هذا الفطر ينتج شيئاً يهاجم هذه البكتريا (شكل رقم ١١٥) وأطلق فلمنج على هذه المادة غير المحددة اسم البنسلين وقد عجز الكيميائيين فى ذلك الوقت عن استخلاص المادة النقية .

وقد تبنى هوارد فلورى فكرة تعاطى البنسلين لمعالجة العدوى ومعه كثير من العاملين فى مدرسة سير ويليام دن للباثولوجيا بأكسفورد ، وكان أحد دوافع هذا العمل هو الحاجة الشديدة لعلاج الأعداد الكبيرة من حالات الجروح الملوثة للحرب. وقاد فلورى مشروع بحث نجح فيه فى استخلاص وتنقية البنسلين. وقد تبين أن البنسلين له فعالية هائلة فى شفاء حالات معينة من العدوى بالبكتريا ، وسرعان ما تم الترحيب بالبنسلين كدواء مبهر. وأصبح البنسلين هو العضو الأول لجيل المضادات الحيوية الجديد الذى أدى إلى حدوث تحول فى ممارسة الطب ، وما لبث أن أدى الأمر بعد عقد آخر إلى ظهور مايسمى بالبنسلينات الجديدة التى صنعت بتحوير جزىء البنسلين كيميائياً ليصبح أكثر فعالية بطرق شتى (شكل رقم ١٢٠) .

وكان الطلب على البنسلين فى عام ١٩٤١ يفوق كثيراً ما ينتجه معمل أكسفورد بسبب غارات الأعداء التى كانت تعوق الصناعة ، ثم قام فلورى وهيتلى بزيارة الولايات المتحدة حيث حصلا على الدعم لتنظيم إنتاج مكثف من البنسلين. وقبل أن يغادرا بريطانيا مسحا بطانة بلاطيهما بجراثيم البنسيليوم حتى يمكن استعادتها لو أن المزارع التى فى أوكسفورد ضاعت عقب وقوع غزو ألمانى.

- Some fungi produce antibiotics
  - Penicillin was the first antibiotic to be discovered

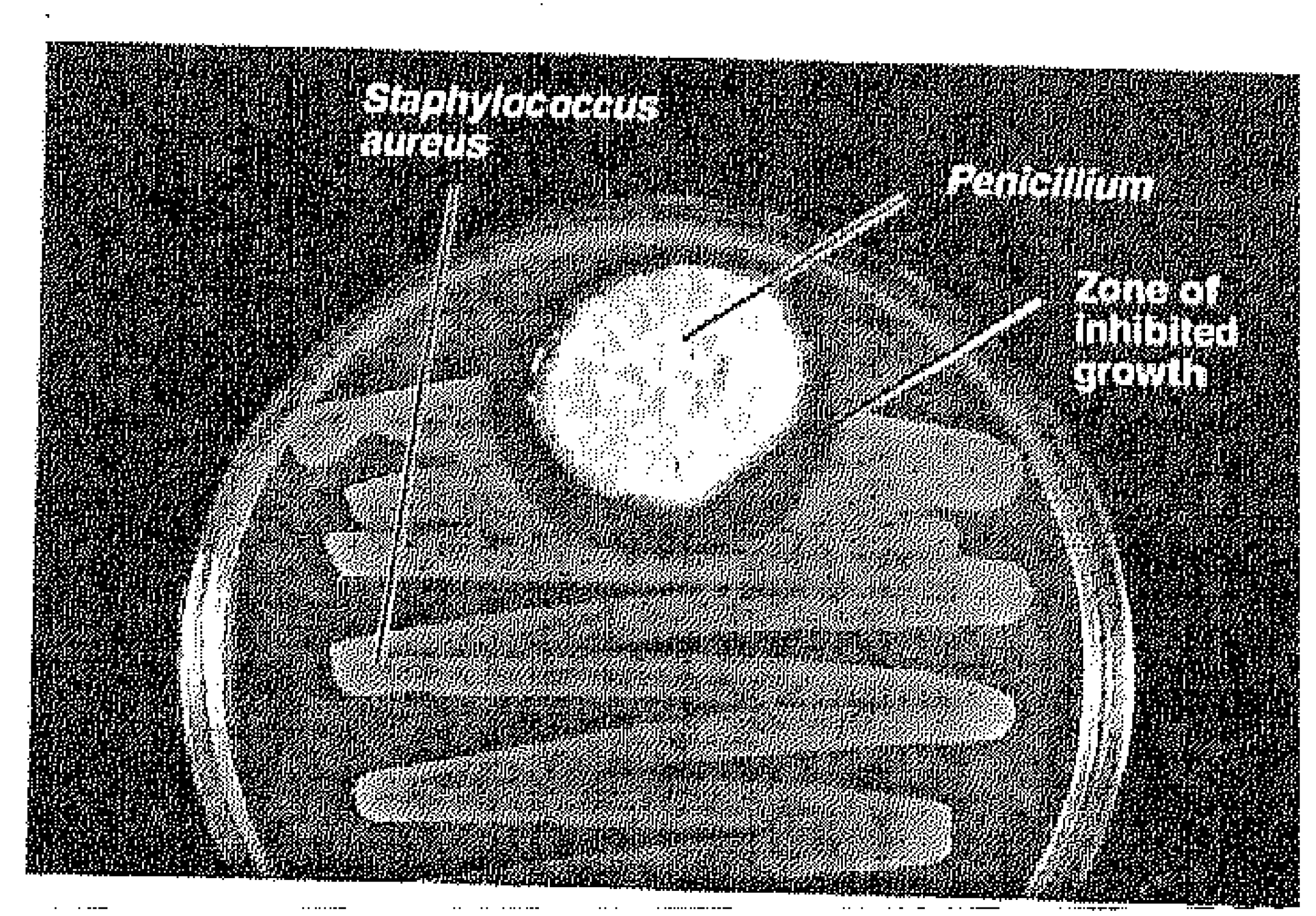


Figure 17.20B

شكل رقم ١١٥ . يوضح أن بعض الفطريات تنتج مضادات حيوية ويتضح من الشكل أن فطر البنسيليوم ينمو ويكون حوله هالة من تثبيط النمو لبكتيريا *Staphylococcus aureus* .

الشكل التالي (شكل رقم ١١٦) يوضح لماذا تكون الفطريات مهمة ، فبعضها مثل المشروم (فطر عيش الغراب) يحتوى على أجسام ثمرية ، الخميرة مهمة فى صناعة البيرة وفى تخمر العجين ، وبعض الفطريات التى تستخدم فى تصنيع ونضج بعض أنواع الجبن .

- Fungi are also important as food
  - Mushrooms are the fruiting bodies of subterranean fungi
  - Yeasts (unicellular fungi) are essential for baking and beer and wine production
  - Fungi are used to ripen certain cheeses

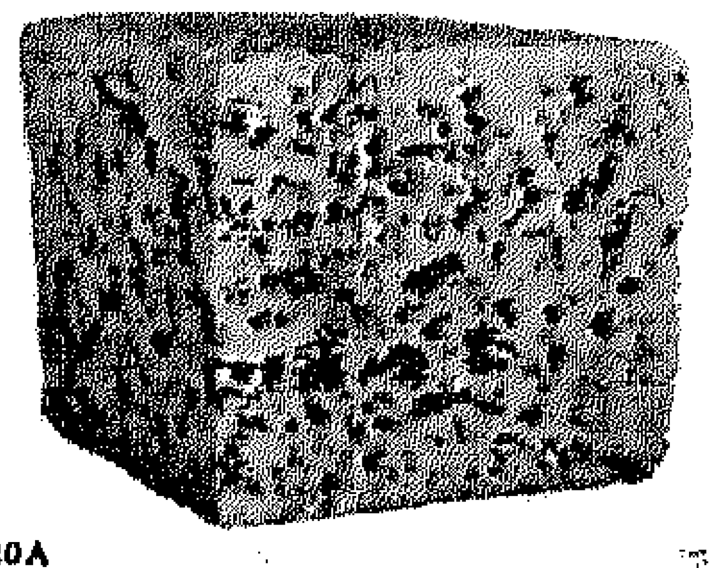
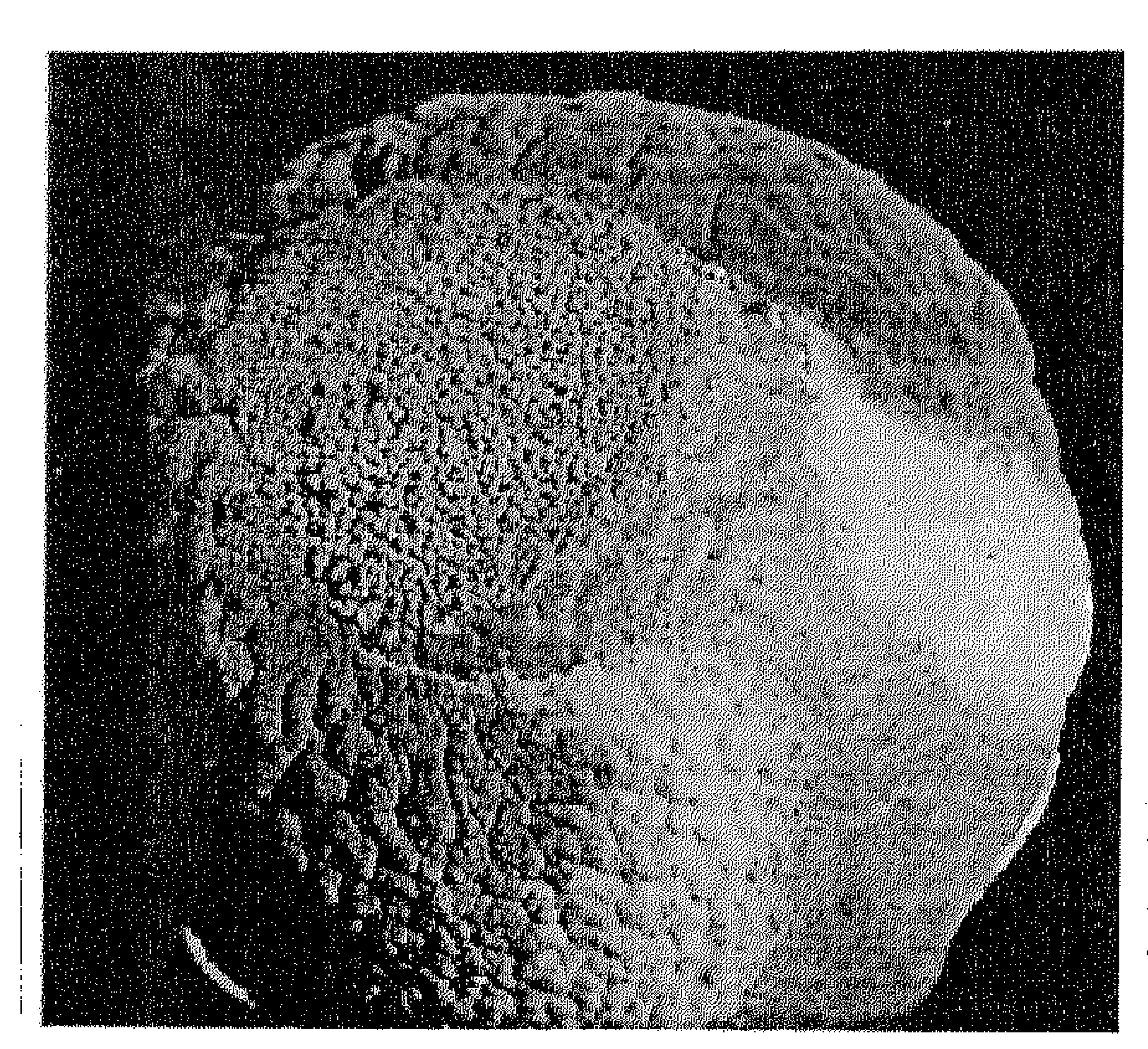


Figure 17.20A

شكل رقم ١١٦ . يوضح أهمية الفطريات في تصنيع الجبن



The spores in *Penicillium* often contain blue or green pigments which give the colonies on foods and feeds their characteristic colour. It is the spores in the blue cheese that give the colour to the cheese.

شكل رقم ١١٧ . يوضح نمو فطريات البنسيليوم

على ثمرة البرتقال Penicillium *italicum* and Penicillium digitatum

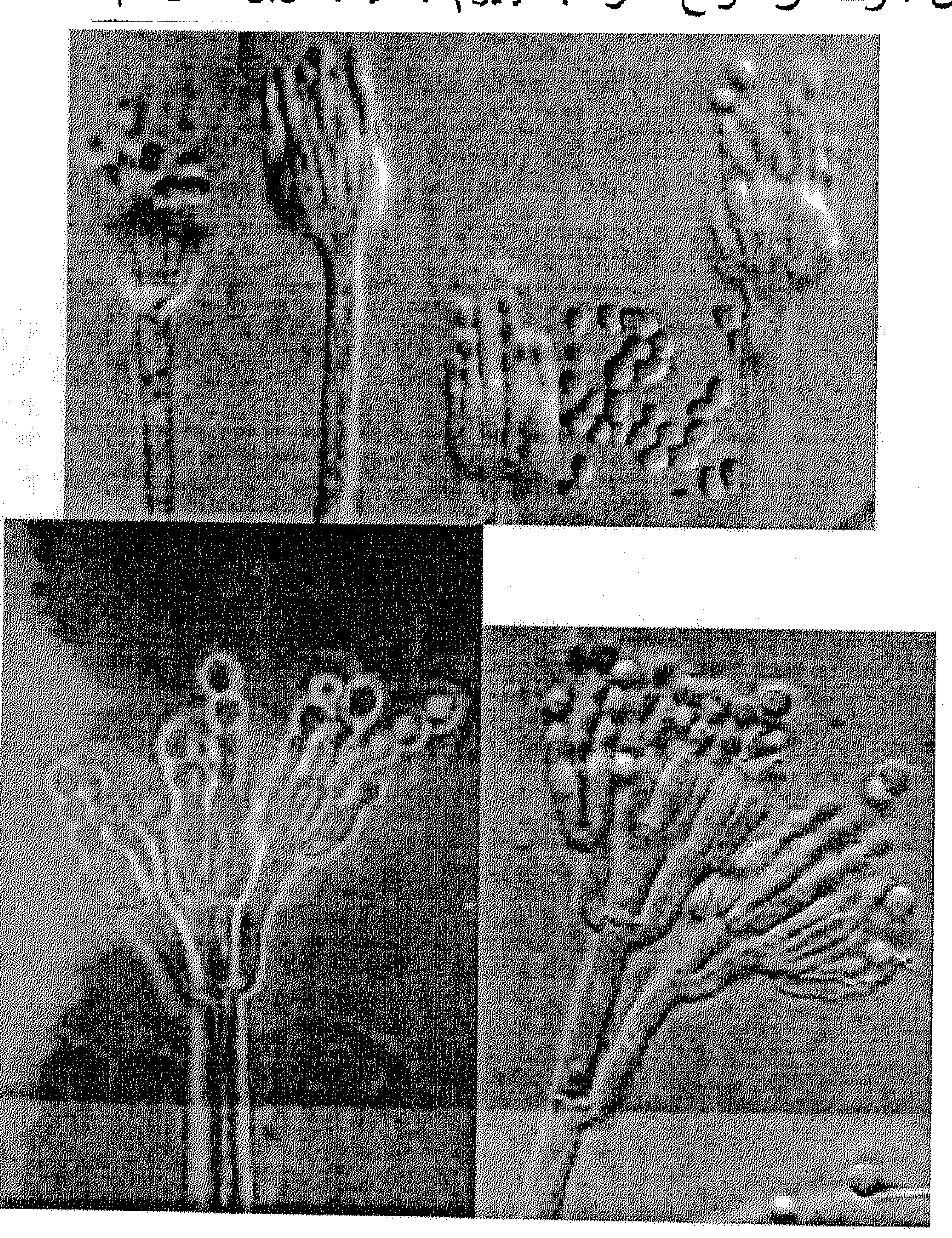
أتت كلمة بنسيليوم Penicillium من كلمة penicillus وهى تساوى كلمة brush أو فرشاة ، وهى تعتمد على ظهور ما يشبه الفرشاة من التركيب الثمري تحت الميكروسكوب . ثمرة البرتقال تم تلقيحها بنوعين من فطر البنسيليوم فى نفس الوقت ، المستعمرات الزرقاء الصغيرة هى *Penicillium italicum*، أما المستعمرات ذات اللون الأخضر الزيتوني هى *Penicillium digitatum* (شكل رقم ١١٧) ، وهذان نوعان شائعان من فطر *Penicillium* الذى يهاجم ثمار الموالح ، ملايين الدولارات من الخسائر تحدث كل عام بسبب هذا الفطر أثناء عمليات التخزين أو نقل ثمار الحمضيات . الحقيقة هى أن *P. digitatum* ينمو بسرعة أكبر وهذا لا يعنى بالضرورة أنه فطر التعفن الأكثر جدية ، وهو يعتمد على درجة الحرارة ، فعندما يتم تلقيح البرتقال عند درجة حرارة الغرفة ، وعند درجة حرارة الثلاجة (٥ درجات مئوية) حينئذ سنجد أن *P. italicum* سينمو أسرع . بالنسبة للجزء الأكبر من أنواع فطر البنيسيليوم مثل درجة الحرارة، وعلى الجانب الاخر فإن البنيسيليوم فطر انتهازى متعدد الاستعمال بترسانة الإنزيمات المفيدة تحت تصرفه لمهاجمة مجموعة كبيرة من المواد الغذائية العضوية . ولذلك يمكن أن نراه عادة على الغذاء المتروك لمدة طويلة فى الثلاجة ، إنه يميل إلى الخبز ، الجبن ، اللحوم

الباردة ، السندويتشات القديمة ، منتجات الحبوب ومجموعة كبيرة من الأشياء الأخرى .

إذا كنت مزارعاً وتقوم بتخزين حبوبك فى الصناديق فإن البنسيليوم حينئذ سيكون خصماً خطراً و إذا كانت نسبة الرطوبة فى حبوبك عالية جدا فإن فطر البنيسليوم سيحطمها بكل سعادة ، فبينما هذا الفطر ينمو فى الغذاء فإنه يمكن أن ينتج سموم خطرة تعرف بالـــmycotoxins فى بقايا الحبوب وحينئذ يمكن أن يسبب تأثيرات مؤذية جدا فى غذاء الحيوان المستهلك الملوث . يسبب فطر *Penicillium* expansum العفن اللين فى التفاح و الجزء المتعفن من التفاح يحتوى على سموم فطرية تسمى patulin المنتجة بواسطة الفطر . إذا كان هذا التفاح مجهزاً للعصير فإن السموم الفطرية patulin ستوجد فى العصير ؛ ولذا فإن التفاح المصاب بالعفن الأسود لا يجب أن يستعمل لعمل عصير التفاح . السموم الفطرية patulin لها طيف واسع كمضاد حيوي بالنسبة لكل من البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام ، وكذلك ضد بعض الفطريات الأخرى ، وأنواع البنيسيليوم تحطم المنتجات الغذائية بالإفراز الخارجي من الإنزيمات . إنتاج المضادات الحيوية سيمنع المنافسة ويحمى المواد من الاستعمال الخاص بواسطة البنيسيليوم على الأقل لفترة محدودة . فطر *Penicillium* ليس كله سيئ ، وعلى الجانب الأخر يمكن أن نستعمل *Penicillium roquefortii* لتصنيع الجبن الأزرق ، فى أثناء عملية التخمر فإن الفطر يمكن أن يمنح المنتج النهائى نكهة لطيفة ، وبالمناسبة فإن اللون الأزرق فى الجبن الأزرق تسببه الصبغة الموجودة فى الجراثيم الكونيدية للفطر ، ويمكن للفرد أن يأكل ويستهلك ملايين الجراثيم بالملايين عند تناوله الجبن الأزرق ، وهذا يدعونا ألا ننسى مساهمات فطريات *Penicillium notatum and P. chrysogenum* فى إنتاج المضاد الحيوي البنسلين in the production of the antibiotic penicillin . لقد أصبحت أنواع البنيسليوم مشهورة بالارتباط بالمضادات الحيوية . فالبنسلين هو ناتج عرضي لفطر البنسيليوم نوتاتم *by-product of Penicillium notatum* والذى عندما يتم تحرره فى الوسط الغذائي فإنه يثبط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، والبنسلين قد تم اكتشافه بواسطة السيد Alexander Fleming فى عام ١٩٢٩ لكنه لم يستغل حتى الحرب العالمية الثانية . الأهمية الكبيرة لهذه المادة هى أنها تمنع نمو البكتيريا بدون أن تكون سامة على الأنسجة الحيوانية . الاهتمام بالبنسلين يعود إلى البحث المركز للمضادات الحيوية الأخرى . وعلى أية حال فإن البنسليوم له أهمية اقتصادية فى النواحى الأخرى ، على سبيل المثال بعض الأنواع تعطى النكهة لبعض أنواع الجبن والرائحة ، وهذه الصفات قد تم تقييمها إلى حد كبير من قبل خبراء الأطعمة. واحد فى هذا الاتجاه هو فطر *P. roquefortii* والذى وجد أولا فى

الكهوف بالقرب من قرية ريكفورت الفرنسية near the French village of Roquefort .

والقصة الأسطورة فى هذا الموضوع هى أن شاباً فلاحاً ترك ، غذاءه وهو قطعة من الجبن المعتدل ، فى أحد هذه الكهوف ، وبعد أن عاد إليها بعد بضعة أسابيع وجد أنها فطيرة معطرة . الأجبان الوحيدة من المنطقة المحيطة بهذه الكهوف المعينة سمح لها بأن تحمل اسم ركفورت Roquefort ،والأنواع الأخرى التابعة لهذا الجنس مثل *P. camembertii* تعطى جبن Camembert cheese جودة نوعية خاصة . ويتكاثر فطر البنسيليوم لاجنسيا بتكوين الجراثيم الكونيدية (شكل رقم ١١٨ ، ١١٩) ، مع ملاحظة أن الحوامل الكونيدية conidiophores تنشأ من أنسجة العائل . وتتكاثر أنواع فطر البنسيليوم جنسيا بتكوين الجراثيم الأسكية .

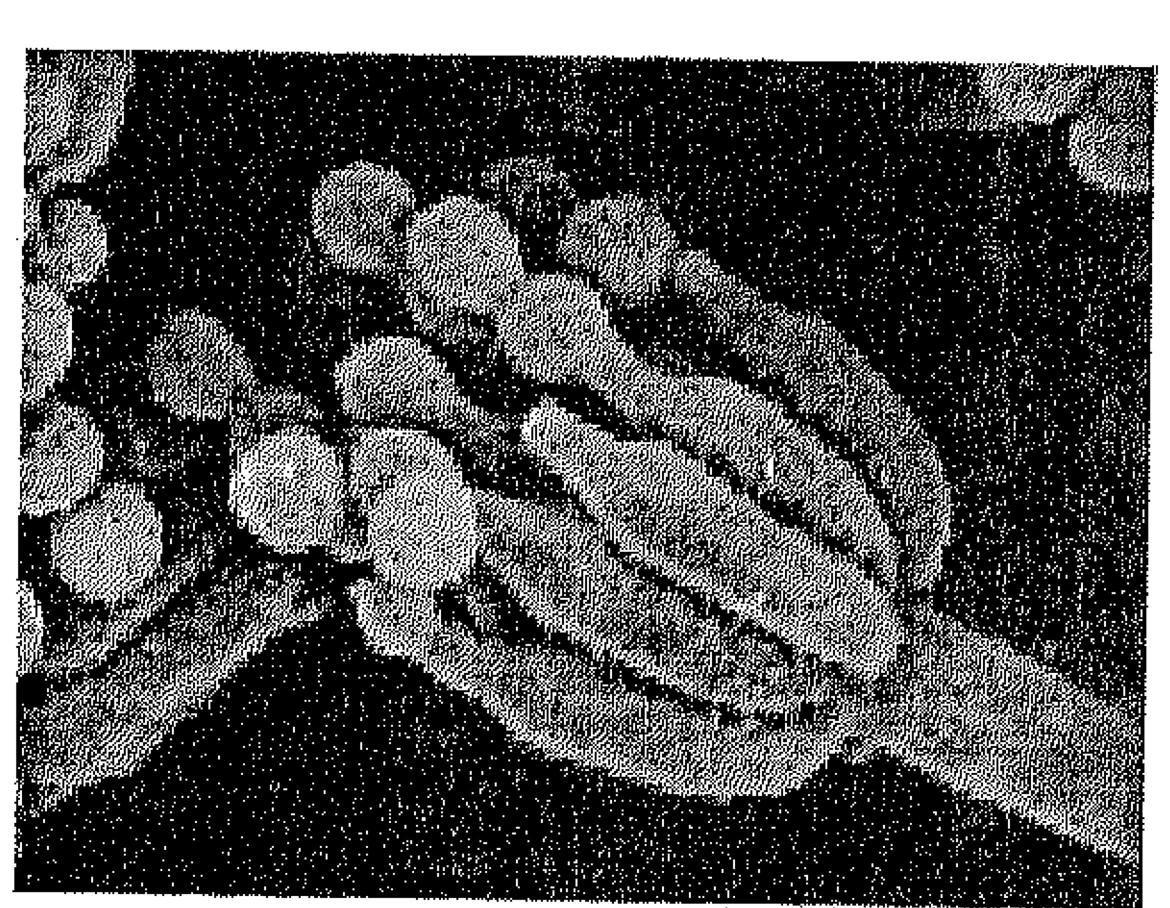


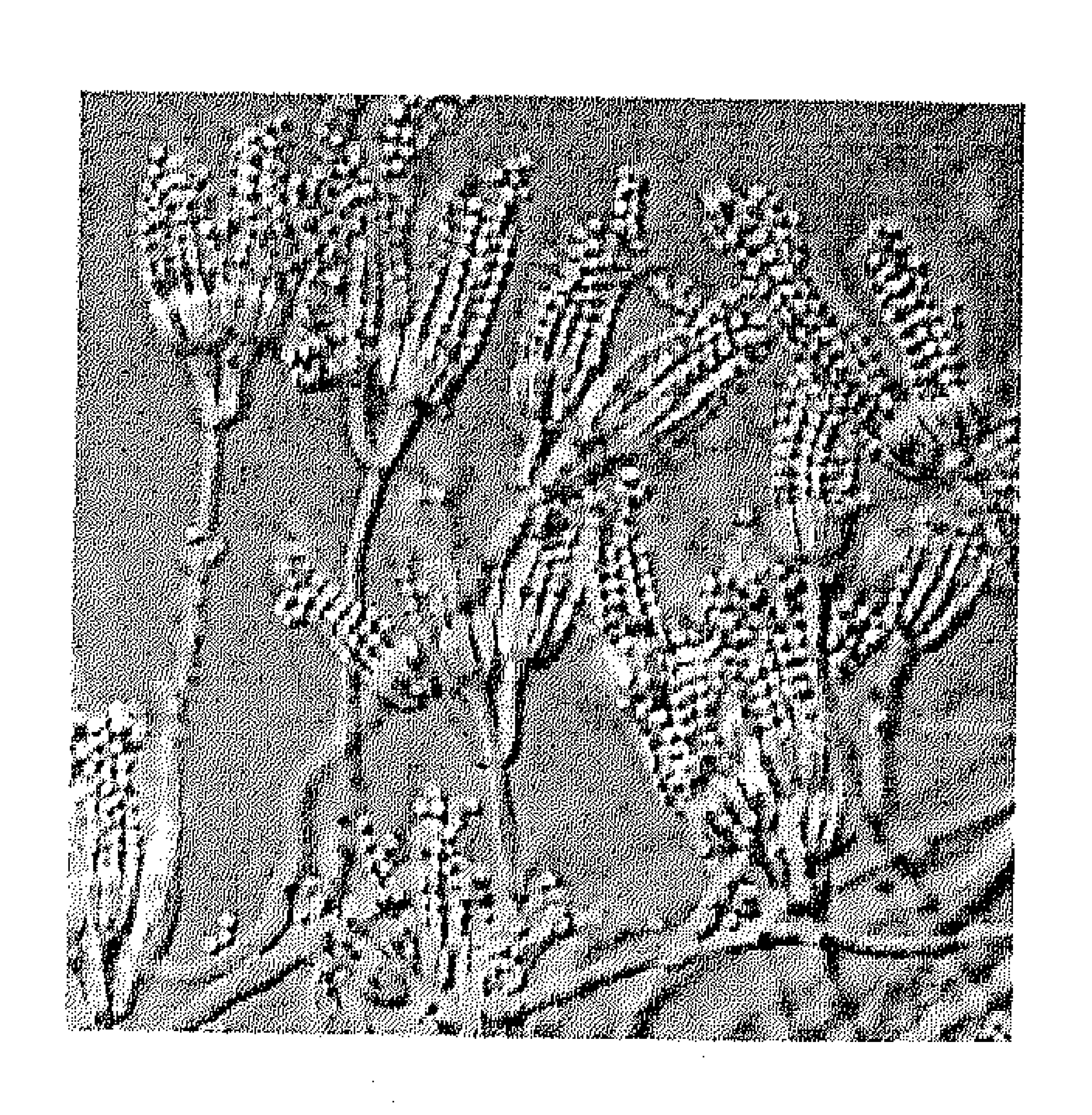
كل ر قم ١١٨١ . يوضح تكاثر فطر البنسيليوم لاجنسيا بتكوين الجراثيم الكونيدية ، مع ملاحظة أن الحوامل الكونيدية *conidiophores* تنشأ من أنسجة العائل .

وأنواع فطر البنسيليوم معروف عنها أنها تكون تراكيب جرثومية كثيفة تشبه الفرشاة . الحوامل الجرثومية تكون بسيطة أو متفرعة ومنتهية بعناقيد على هيئة قارورة ، وتنتج الجراثيم الكونيدية فى سلاسل جافة عند قمة phialides . الجرثومة الأكبر ستكون عند قاعدة السلسلة وتكون خضراء بشكل دائم تقريبا . عملية التفريع تعتبر ميزة مهمة فى تعريف أنواع البنسيليوم . الحدوث المشترك لأنواع البنسيليوم فى الغذاء هو مشكلة لها اهتمام خاص . فبعض الأنواع تنتج سموما وقد تعيد الخطر إلى الغذاء غير الصالح للأكل أو للغذاء المطهى ، إنها ممارسة جيدة لنبذ الأطعمة التى تظهر تطوير من أى نوع (شكل رقم ١٢١) .

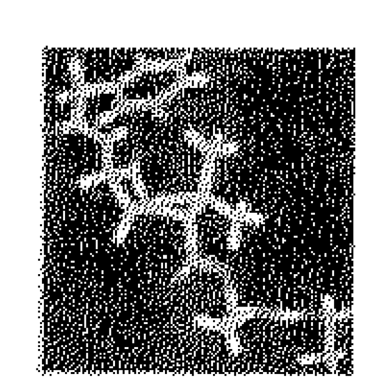
شكل رقم ١١٩: يوضح النموات التى تشبه الفرشة للتراكيب الثمرية لفطر البنسييوم

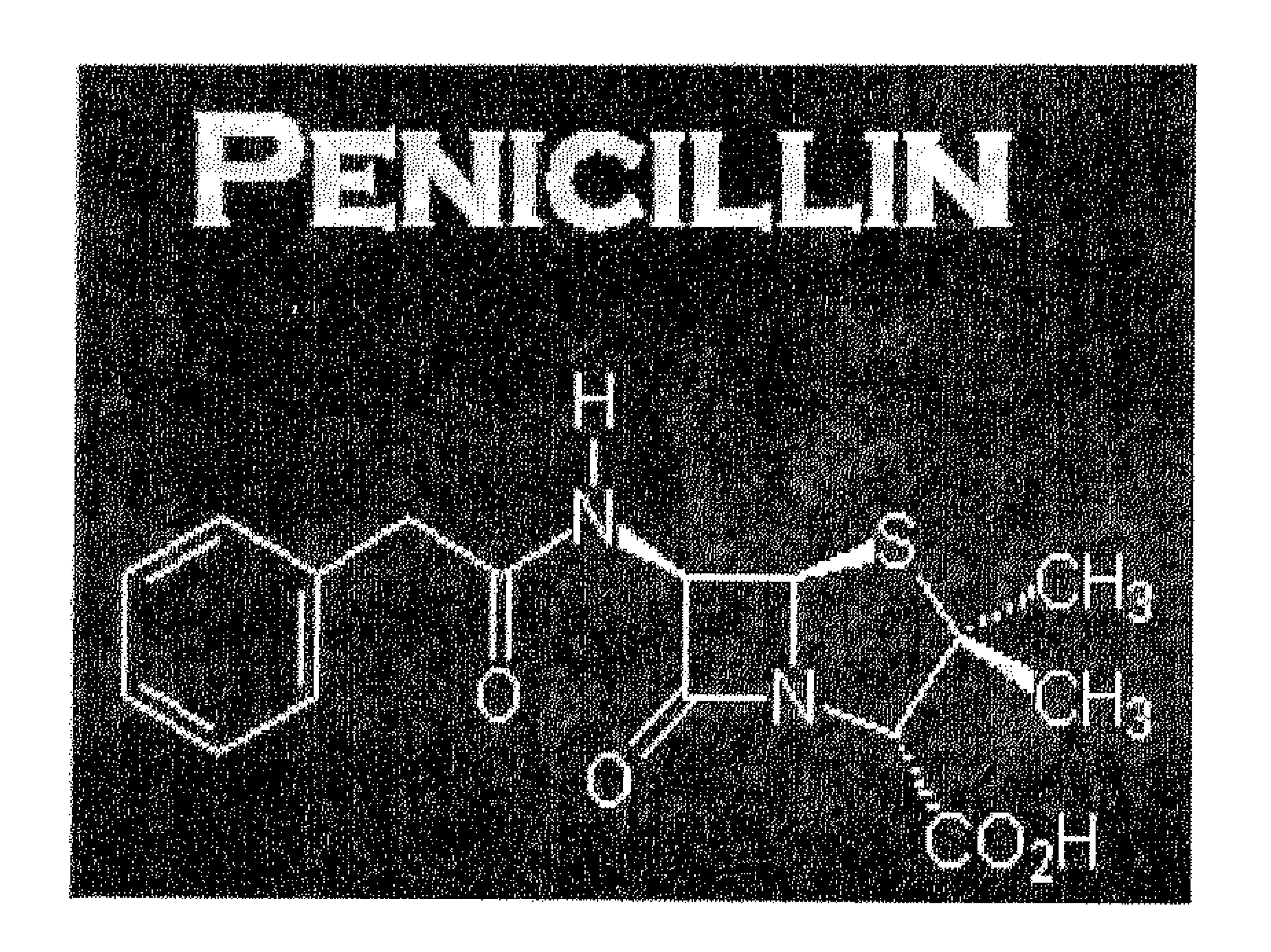
Penicillium



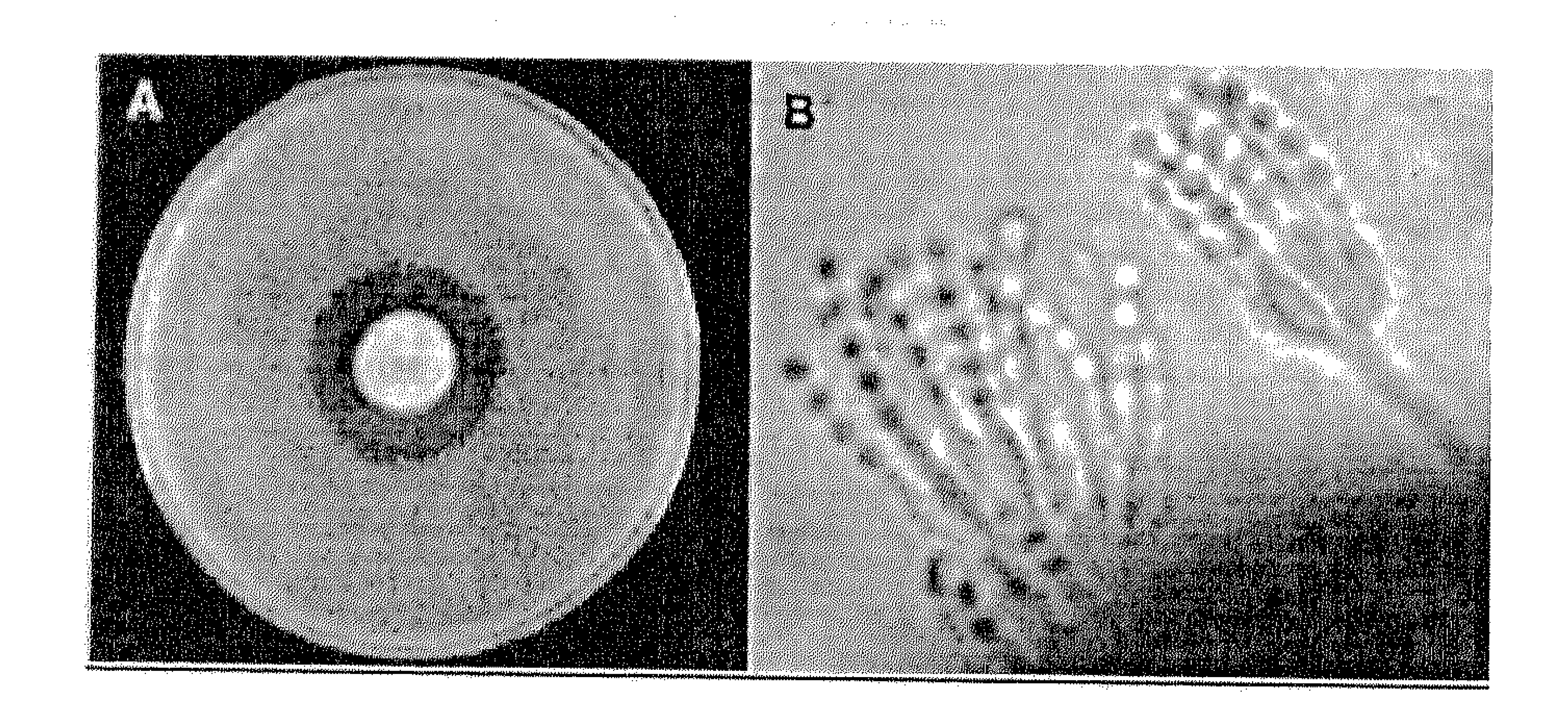


The name *Penicillium* comes from penicillus = brush, and this is based on the brush-like appearance of the fruiting structures





شكل رقم ١٢٠ : يوضح التركيب الكيميائي للبنسلين



شكل رقم ١٢١ : يوضح نمو فطر *Penicillium chrysogenum* (A)
والجراثيم الكونيدية التى يكونها الفطر (B)

جيل جديد من الفاكسينات (الطعوم) :

يتأسس إنتاج الكثير من الفاكسينات المستخدمة فى التحصين على مبادىء لم تتغير إلا قليلاً على مر القرون القليلة الماضية. فبعضها مثل فاكسين سولك لشلل الأطفال يتكون من ميكروبات مقتولة ولكنها تحتفظ بقدرتها على إحداث المناعة. والبعض الآخر مثل فاكسين سابين لشلل الأطفال يتكون من فيروس حى تم إضعافه لمنعه من أن يسبب المرض (فيروس مستضعف) ويمكن أن ينتقل هذا الفيروس من الشخص المطعم به إلى الأفراد الآخرين فى المجتمع ، مما يجعلهم بالتالى محصنين ضد مرض شلل الأطفال.

والتحور الوراثى يتيح لنا الإمكانيات التالية فى مجال إنتاج الطعوم :

١- يمكن لشركات صناعة الفاكسينات تنمية بكتيريا غير ضارة حُورت وراثيّاً بجينات تشفر لبروتينات (أنتيجينات) تستثير إنتاج الأجسام المضادة الواقية من الميكروبات المسببة للمرض. وقد صنعت بهذه الطريقة فاكسينات الالتهاب الكبدى B ، التيتانوس ، الدفتريا.

٢- إنتاج فاكسينات حية من خلال البرمجة الوراثية لجينات معينة داخل ميكروب غير ضار يعمل كحامل للجينات المختصة. وبهذا فإن الميكروب ينتج أنتيجينات تستثير إنتاج الأجسام المضادة.

والحقيقة أن فاكسينات شلل الأطفال الحالية توضح نقطة خطيرة بشأن إطلاق خلية حية فى البيئة. ففاكسين سابين يتكون من فيروس مستضعف وإن كان حيّاً ، وهو يؤخذ عن طريق الفم ، وإحدى مزايا هذا النوع من التحصين هو أن الفيروس يتم إخراجه فى براز الأطفال المطعمين وبالتالي فإنه يمكن تمريره إلى الآخرين الذين تصيبهم عدواه فيصبحون إذن محصنين حتى وإن كانوا لم يطعموا هم أنفسهم. والضرر المقابل لذلك هو مايحدث من تغيرات نادرة فى فيروس سابين ، بما يجعله قادراً على إحداث مرض شلل الأطفال وهذا التغير المعاكس لا يمكن أن يحدث مع فاكسين سولك لشلل الأطفال . والذى يتكون من فيروس غير حى ، وهذا يجب تعاطيه بالحقن ، مما لا يعمل على استحداث المناعة فى الأطفال الذين لم يطعموا بهذا الطعم. وفى الحقيقة إنها حيرة فى المفاضلة بين الفاكسين الحى والميت ، وتتضح هذه الحيرة من الخبرة التى مرت بها هولندا. فعندما أصبحت فاكسينات شلل الأطفال متاحة لأول مرة ، قررت الحكومة الهولندية على غير

المعتاد بين الدول الأوربية الأخرى ؛ أن تختار فى برنامجها للتحصين الوقائى ضد مرض شلل الأطفال فاكسين سولك بدلاً من فاكسين سابين(فيروس حي مستشعف) ومنذ ذلك الوقت كان قد تم عملياً إستئصال مرض شلل الأطفال فى الدول التى مارست عملية التحصين الجماعى ، إلا أنه رغم ذلك تحدث نوبات من تفشى مرض شلل الأطفال بين أفراد المذهب البروتستنتى المتطرف والذين يرفضون التطعيم عن عقيدة. إلا أن الأطفال اللذين تأثروا بهذه النوبات كان يمكن لهم أن ينجوا من المرض لو أن هولندا اختارت فاكسين سابين الذى كان سينتشر فى المجتمع ويحدث المناعة حتى بين الأفراد غير المطعمين.

استخدام البكتريا كمبيدات للآفات :

إن النوع المستحدث من مبيدات الآفات هو ذلك النوع الذى من أصل حيوى تنتجه بكتريا الباسيلس ثيروينجينسيس *(B.t.)* وهذه البكتريا تتطفل على يرقات دودة ورق القطن طاحنة الأوراق وكذلك على اليرقات الأخرى التى تهاجم محاصيل زراعية هامة. وقد استخدم المزارعون مستحضرات تجارية لهذا النوع من البكتريا خلال ربع قرن من الزمان لحماية نباتات اقتصادية هامة مثل الكرنب والقطن والفاصوليا والبطاطس. وللتأكد من استمرار الوقاية يجب رش المحاصيل عدة مرات متكررة. فلقد أصبحت مكافحة هذه الدودة تنصب من الدرجة الأولى على استخدام المبيدات ، وهذه تسبب بدورها أضراراً بالغة للإنسان وللبيئة خاصة وأن تكرار استخدام المبيدات ضد هذه الحشرة قد أدى إلى إنتاج سلالات منها مقاومة للمبيدات المستخدمة . ولقد أظهرت الأبحاث أن Crystalline body المتكون داخل خلايا *B.t.* عند التجرثم يعتبر مصاحباً لنشاط البكتريا المضاد لهذه الحشرة حيث يحتوى هذا الكريستال على مادة سامة سائلة قلوية سميت هذه المادة σ-endotoxin ولقد استخدمت هذه المادة فى المكافحة الحيوية للحشرة فى ولاية تكساس بالولايات المتحدة الأمريكية . هذا مع العلم بأن استخدام المواد المطفرة مع *B.t.* يمكن أن ينتج عنها Sporogenous strains تتميز بخصائص تحسين سمية الكريستال ضد يرقات هذه الدودة التى تهدد المحاصيل الحقلية فى العالم. إن سلالات *B.t.* عندما تهاجم رتبة Lepidoptera تنتج مادة Crystals التى تتكون من ١٣٠ – ١٤٠ كيلو دالتون من البولى ببتيدات . وقد عرفت هذه البولى ببتيدات بأنها توكسينات أولية غير نشطة ، واليرقات المصابة عندما تتناول هذه التوكسينات الأولية فإنها تقوم

بإفراز إنزيم البروتينيز عليها وتعمل على تحويلها إلى جزيئات ذات سمية حقيقية وزنها الجزيئى ٥٥-٧٢ كيلو دالتون٠

ولقد وجد Puntambekar et al. (1995) أن سلالات *B.t.* التى حدث بها اندماج للبروتوبلاست كان محتوى DNA بها هو ١١٧٣,٠٤ pb مقارنة بالآباء التى كان محتوى DNA بها حوالى ٦٥٤,٢٨ pb ، ٥٤٥,٥٩ pb ، وقد وصلت نسبة الموت ليرقات دودة ورق القطن المعاملة بالهجن الناتجة من اندماج البروتوبلاست إلى ٧١,١% ، بينما كانت نسبة الموت لليرقات المعاملة بالسلالات الأبوية للـ *B.t.* هى ٦١,١% ، ٦٥,٠% ، وهذا يعكس مدى أهمية التحور الوراثى للخلايا الميكروبية من *B.t.* فى زيادة الكفاءة السمية للمبيد الحيوى المستخلص منها٠

هل التحور الوراثى بالجينات للخلايا الميكروبية عملية آمنة :

إن كان علماء البيولوجيا الجزيئية قد اكتشفوا حديثاً القدرة على إدخال جينات جديدة محددة بدقة إلى خلايا الكائنات الدقيقة ، إلا أنه من الواضح أن بعض التحورات الممكنة قد يكون فيها ماهو طائش ، كأن ندخل مثلا جيناً مسرطناً فى خلية بكتيرية قادرة على استعمار الأمعاء البشرية . والتحورات التى من هذا النوع لا يمكن أن تحدث صدفة ، كما أنها لا يتم تنفيذها عن عمد إلا فى أبحاث الحرب البيولوجية ، فالتحور الوراثى بشكل عام له فوائده إذا استخدم فى خدمة البشرية وله أضراره إذا تم استخدامه فى الاتجاه المضاد٠

إطلاق الميكروبات فى التربة :

هناك تحكم فعال فيما يزيد عن مائة آفة مختلفة بإدخال وترسيخ أنواع هى عدو طبيعى للأنواع الضارة٠ فقد تمت تربية خلايا ميكروبية مثل *B.t.* وإطلاقها عن عمد ، ودون أى خطر يذكر ، وذلك لمكافحة أشكال أخرى من الحياة ضارة بالمحاصيل ، ورغم أن هذا النوع من البكتريا يحتوى على آليات لنقل جينه السام إلا أنه لم ترصد له أى آثار بيئية ضارة خلال ما يزيد عن عشرين عاماً من استخدامه على نطاق عالمى٠

عملية إطلاق الرايزوبيوم أيضا وهو نوع من البكتريا يكوّن عقداً على جذور النباتات البقولية مثل البسلة ، البرسيم ، فول الصويا ، الفول البلدى ، الفول السودانى ، اللوبيا ، العدس ، الترمس ، الحمص ... إلخ٠ وفى هذا الإطار من التعايش تقوم الرايزوبيا بإمداد النبات بالنيتروجين الذى قامت بتثبيته من الجو إلى

شكل قابل للتمثيل بواسطة النبات، ولقد تبين لعلماء الكائنات الدقيقة والوراثة إمكانية تشجيع البكتريا على تكوين العقد الجذرية بخلط البذور بخلايا الرايزوبيا الموجودة طبيعيّاً أو المحورة وراثياً، ومنذ ذلك الوقت ظهرت للوجود صناعة لإمداد المزارعين بهذه المستحضرات وتعالج الآن سنويّاً ملايين الهكتارات من الأرض بالرايزوبيا وذلك بدون وجود أى ردود فعل ضارة بالصحة والبيئة،

وفى الخلايا الميكروبية المحورة وراثيا بجينات معينة يجب تقييم ما إذا كان البلازميد الحامل لجين مطعم يحتمل أن ينتقل ويدخل فى خلايا ميكروبية أخرى غير مستهدفة، وهناك برنامج لتقييم مخاطر التحور الوراثى تقوم به دول المجموعة الأوربية ، قام فيه علماء بريطانيون وألمان وفرنسيون بإطلاق بكتريا الرايزوبيوم والتى تحتوى جيناً يشفر لمقاومة مضادات حيوية معينة ، وذلك كعلامة ترقيم لتحديد المدى الذى تنتقل فيه الجينات إلى خلايا أخرى لأنواع جنس الرايزوبيوم الموجودة من قبل بالتربة، وتوجد طرق أخرى استخدمت لسنين طويلة لأهداف متابعة انتشار مقاومة الأدوية فى سائر أنحاء العالم وهذه الطرق ستكون لها فائدتها فى تقييم التوتر الذى يحدث فيه تبادل البلازميدات بين الميكروبات الطبيعية أو المحورة وراثيّاً والتى أدخلت فى التربة مع الفلورا الموجودة أصلاً بالتربة،

الخلاصة :

يمكن أن تكون بعض الفطريات مفيدة ولها قيمة وأهمية اقتصادية ، فبعض أنواع البنسيليوم مفيداً للبشر . عديد من الأجبان مثل Roquefort, Brie, Camembert, Stilton .. إلخ ، تنضج بأنواع من فطر البنسيليوم وتصبح آمنة جدا للأكل، وينتج عقار البنسلين بواسطة *Penicillium chrysogenum* وهو عموما يحدث فى معظم البيوت . بعض السلالات البكتيرية مثل الباسيليس ثيرونجنسز وجد أن Crystalline body المتكون داخل خلايا *B.t.* عند التجرثم يعتبر مصاحباً لنشاط البكتريا المضاد لهذه الحشرة حيث يحتوى هذا الكريستال على مادة سامة سائلة قلوية سميت هذه المادة σ-endotoxin . ولقد استخدمت هذه المادة فى المكافحة الحيوية للحشرة فى ولاية تكساس بالولايات المتحدة الأمريكية ، هذا مع العلم بأن استخدام المواد المطفرة مع *B.t.* يمكن أن ينتج عنها Sporogenous strains تتميز بخصائص تحسين سمية الكريستال ضد يرقات هذه الدودة التى تهدد المحاصيل

الحقلية فى العالم وتعد من الأفات طاحنة الأوراق ، ورغم أن هذا النوع من البكتريا يحتوى على آليات لنقل جينه السام إلا أنه لم ترصد له أى آثار بيئية ضارة خلال ما يزيد عن عشرين عاماً من استخدامه على نطاق عالمى.

الأسئلة :

١- اذكر مثال توضح به أهمية فطر البنسيليوم نوتاتم فى مكافحة الأمراض البكتيرية ؟

٢- ما رأيك في مراحل تطور فاكسين شلل الأطفال ؟

٣- اذكر ما تعرفه عن الطريقة التى ابتكرها الباحثون فى المملكة المتحدة لمنع الفاكهة من أن تصبح طرية ؟

٤- ألق الضوء على الأمان الحيوي المتوقع من التحور الوراثي بالجينات للخلايا الميكروبية ؟

٥- ما هى الإمكانيات التى يمكن أن يتيحها التحور الوراثى فى مجال إنتاج الطعوم؟

الخاتمة :

بنهاية هذا الكتاب يجب أن يكون المتخصص فى علم الوراثة وبرنامج أمراض النبات قد أدرك ما يلي :

١- التقدم السريع الذي حدث فى مجال استخدام الهندسة الوراثية لتحسين المحاصيل الحقلية ضد الحشرات والمسببات المرضية المختلفة ؟

٢- التوسع فى المساحة المنزرعة بالمحاصيل المعدلة وراثياً بجينات معينة من ١,٧ مليون هكتار فى عام ١٩٩٦ إلى ٣٩,٥ مليون هكتار فى عام ١٩٩٩ على مستوى العالم ؟

٣- علاقة النباتات المعدلة وراثيا بالبيئة حيث يتراوح عدد المبيدات الكيماوية المستخدمة فى رش نباتات القطن وحدها مابين ١٠ – ٤٠ نوعاً ، من المبيدات بينما فى حالة استخدام المحاصيل المعدلة وراثيا بجينات لمكافحة الآفات فإنه

يحدث انخفاض فى معدل استخدام المبيدات الكيماوية فى مكافحة الآفات يتراوح مابين ٣٢ إلى ٥٠% ؟

٤- أهمية زراعة النباتات المعدلة وراثيا بالانخفاض فى معدل استخدام المبيدات الكيماوية وما سيترتب عليه من زيادة كفاءة ونشاط الوسائل الطبيعية مثل الأعداء الطبيعية للآفات والمبيدات الحيوية ؟

٥- علاقة التحول الوراثى للنباتات بزيادة إنتاج الغذاء ليتواكب والزيادة السكانية المضطردة فى العالم ؟

٦- علاقة التعديل الوراثي للنباتات بتكوين صفة المقاومة للآفات الحشرية وكذلك صفة المقاومة للأمراض وللظروف البيئية القاسية الناتجة عن الضغوط البيئية غير الحية ؟

٧- علاقة دعم صفات المقاومة فى النبات للمسببات المرضية بتحسين القيمة الغذائية للمنتج الزراعى كما تعمل على تعزيز تحمل المنتج لعمليات الحصاد والتخزين ؟

٨- أهمية الأنواع الجديدة من المحاصيل والمبيدات الحيوية في الإقلال من معدلات استخدام المبيدات الكيماوية والإقلال من تكلفة الإنتاج والمقاومة للمزارع ، وسوف تعمل كذلك لحماية صحة الإنسان والبيئة من التلوث بفعل استخدام المبيدات الكيماوية والأسمدة ؟

٩- أهمية التحور الوراثى للنباتات في التحكم فى وجود الأعشاب الضارة مما سيعمل على زيادة دخل المزارع وتوفير الوقت الذى يستغرقه المزارع فى مكافحة هذه الأعشاب أو الحشائش ؟

١٠- إنه في ختام هذا الكتاب يجب أن ننتهي بتوفر معلومات كافية عن ناقلات المادة الوراثية وجينات المقاومة للحشائش والمضادات الحيوية والمستخدمة كعلامات وراثية لانتخاب النباتات المعدلة وراثياً ، فالتعديل الوراثي فى المحاصيل هدفه دعم صفات المقاومة الحيوية لمسببات أمراض النبات وللأفات والمساعدة فى تصنيع الغذاء وتحسين القيمة الغذائية للأطعمة ولمقدرتها التخزينية ، فخطورة التعديل الوراثي على البيئة تتضمن التأثيرات الضارة على الكائنات النافعة غير المستهدفة من نواتج التعديل الوراثى للكائنات ، وفور انطلاق النباتات المعدلة وراثياً فى البيئة فإنه تحدث منها حركة حرة لكل من حبوب اللقاح والبذور والنباتات خارج منطقة زراعة هذه النباتات ، وهنا من

المهم أن يتم متابعة الجينات المنقولة وأثرها على البيئة المحيطة بعد أن يتم إطلاق النباتات المعدلة وراثياً فى البيئة. كما أن اختبار وفحص تأثير النباتات المعدلة وراثيا على الأنواع غير المستهدفة منها يمكن أن يتم عمله بوسائل أو علامات عديدة مثل β-glucorinidase أو بالعلامات الانتخابية مثل المقاومة للمضادات الحيوية أو بالتحليلات الجزيئية أو باستخدام PCR ، أو برامج الأمان الحيوي Biosafety and risk assessment of genetically engineered crops (or products) ؟

١٢- العلاقة الجينية بين المسبب المرضي والعائل النباتي والتى تكون سببا فى التخصص العائلي للمسببات المرضية المختلفة ؟

١٣- الطرق المختلفة لنشأة السلالات الفسيولوجية وكيفية مواجهة السلالات الأشد ضراوة من المسببات المرضية الأبوية ؟

المصادر والمراجع العلمية للكتاب

أ - المراجع العربية :

١- أبو عرقوب ، محمود مرسي (ترجمة) ، جورج أجريوس ، ١٩٩٤ ، أمراض النبات ، المكتبة الأكاديمية .

٢- الشرقاوي ، أحمد ، العبيدي ، أحمد ، ١٩٩٩ ، الهندسة الوراثية وتطبيقاتها فى الإنتاج النباتي ، مركز جامعة القاهرة للطباعة والنشر .

٣- حسن ، أحمد عبد المنعم ، ١٩٩٤ ، تربية النباتات لمقاومة الأمراض والآفات . الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصر – القاهرة .

٤- شوقي ، أحمد شوقي ،، عبد التواب ، فتحي محمد ،، زين العابدين ، علي زين ، إسماعيل ، ممدوح أبو المحاسن ، حسانين ، السيد حسن ، مباديء علم الوراثة ، الدار العربية للنشر والتوزيع – القاهرة .

ب- المراجع الأجنبية :

5- Abdallah . M. M. F. and J . G. Th. Hermsen . 1971 . Concept of breeding for uniform and differential resistance and their integration . Euphytica 20 ; 351 – 361 .

6- Becker, N. (2000). Bacterial control of dipterans – general strategy and further development. In: Proceedings of the 13th European Society for Vector Biology Meeting (S. S. Caglar, B. Alten and N. Ozer, eds), pp. 63–70. DTP, Ankara.

7- Bergstrom, G. C., Davis, P. M., and Waldron, J. K. 1997. Management of anthracnose stalk rot/European corn borer pest complex with transgenic Bt corn hybrids for silage production. Biol. Cultural Tests 12:13.

8- Bernhard, K.; Utz, R. (1993). Production of Bacillus thuringiensis insecticides for experimental and commercial uses. In: Bacillus *thuringiensis*, an Environmental Biopesticide Theory and Practice (P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey, and S. Higgs, eds), pp. 255-267. John Wiley, Chichester. Biology, Ecology and Safety. Wiley, Chichester. 350 pp.

9- Cairns, J., G. Stent, and J. Watson. 1966. Phage and the origins of molecular biology. Cold Spring Harbor Laboratory of Quantitative Biology, NY.

10- Brenner, F.J., Brenner, E.K., Schwartz, T.E. (1999). Use of plaque assay to detect enteric viruses in a rural watershed. Journal of Environmental Quality 28:845-849.

11- Brenner, S. (1955). The adsorption of bacteriophage by sensitive and resistant cells of Escherichia coli strain B. Topley & Wilson's Principles of Bacteriology and Immunology. Anonymous (1955). p.1106Arnold, London .

12- Cavallo, J. D. (1998). *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (Serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. Journal of Clinical Microbiology 36, 2138–2139.

13- Chan, M.T. ; L.J. Chen and H.H. Chang. 1996. Expression of *Bacillus thuringiensis (Bt)* insecticidal crystal protein gene in transgenic potato. Bot. Bull. Acad. Sin., 37 :17-31.

14- Crouch , M . L . 1998 . How the terminator terminates : an explanation for the non – scientist of a remarkable patent for killing second

generation seeds of crop plants . The Edmonds Institute , Edmonds , Wash. USA .

15- Delannay, X. et al. 1989. Field performance of transgenic tomato plants expressing the *Bacillus thuringinesis* var. *Kurstaki* insect control protein. Biotechnology, 7:1265.

16- Dowd, P. F. 1998. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions, pp. 307-350 in Mycotoxins in Agriculture and Food Safety (Sinha, K. K., and Bhatagnar, D., eds.) Marcel Dekker, NY.

17- Dowd, P. F., and Munkvold, G. P. 1999. Associations between insect damage and fumonisin derived from field-based insect control strategies. Proc. 40th Annual Corn Dry Milling Conf., June 3-4, 1999. Peoria, IL.

18- Engelman, R. and LeRoy, P. 1995. Sustaining water. An update, population action international, Washington DC, USA.

19- Fahmy, M. 1995. Our Genetic Future. The Science and Ethics of Genetic Technology. British Medical Association. Academic Bookshop, Cairo.

20- Farrand, S.K. 1990 . Agrobacterium radiobacter K84: a model biocontrol system. PP. 679-691. in New directions in biological control: Alternative for suppressing agricultural pests and diseases. (Publ. Alan R. Liss Inc.).

21- Farrand, S.K. 1990. *Agrobacterium radiobacter* K84: a model biocontrol system. PP. 679-691. in, New directions in biological control:

Alternative for suppressing agricultural pests and diseases. (Publ. Alan R. Liss Inc.).

22- Gatch, E. W., and Munkvold, G. P. 1999. The role of transgenic *Bt* hybrids in the management of the maize stalk rot complex. Proc. 111th Session, Iowa Acad. Sci., April 23-24, 1999, Ames, IA.

23- Gellert M. 1967 . Formation of covalent circles of lambda DNA by E. coli extracts. Proc Natl Acad Sci U S A. Jan ; 57(1):148–155.

24- Genetically modified organisms.http: //edis.ifas.ufl.edu./BODY-FSO84

Genetically engineered foods.http://www.alaskawellness.com/sept-oct00/organic.htm

25- Giles, J., and Knight, J. (2003). Dolly's death leaves researchers woolly on clone ageing issue. Nature 421, 776.

26- Hilder, V.A. and Boulter, D. 1999. Crop Prot., 18:177-191.

27- Hopwood, D.A. 1989. Antibiotic: Opportunities for genetic manipulation. Phil. Trans. R. Soc. Lond., pp. 324-549.

28- Human and environmental health risks of agricultural biotechnology .http://www.wholefoods.com/issues/ge-risks.html

29- Jaenisch, R., and Wilmut, I. (2001). Developmental biology. Don't clone humans! Science 291, 2552.

30- James, C. and Krattiger, A. 1999. In biotechnology for developing country agriculture: Problems and Opportunities (ed. Persley, G.J.), 2020 Vision Focus 2, Brief 4 of 10, International Food Policy Research Institute, Washington DC, USA.

31- Kikkert, J.R. et al. 1998. Expression of a fungal chitinase in Vitis vinifera L. Merlot and Chardonnay plants produced by biolistic transformation. Proceedings of the VIIth International Symposium on Grapevine Breeding and Genetics, Montpellier, France, July 6-10, 1998, Acta-Horticulturae .

32- Lederberg, Joshua. 1956 . Conjugal pairing in *Escherichia coli.* J Bacteriol. Apr;71(4):497–498.

33- Lederberg, Joshua, and Edward L. Tatum .1946 . "Gene Recombination *in Escherichia coli.*" Nature 158, (19 October 1946): 558.

34- Lynch, R. E., Wiseman, B. R., Plaisted, D., and Warnick, D. 1999. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing CryIA(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 92:246-252.

35- Marasas, W. F. O. 1995. Fumonisins: their implications for human and animal health. Natural Toxins 3:193-198.

36- Martin, P. A. W.; Travers, R. S. (1989). Worldwide abundance and *distribution of Bacillus thuringiensis* isolates. Applied and Environmental Microbiology 55, 2437–2442.

37- Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., and Rice, L.G. 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and non-transgenic hybrids. Plant Dis. 83:130-138.

38- Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., and Showers, W. B. 1997. Reduced Fusarium ear rot and symptomless infection in kernels of maize

genetically engineered for European corn borer resistance. Phytopathology 87:1071-1077.

39- Oerke, E.C.; Dehne, H.W.; Schonbeck, F. and Weber, A. 1994. Crop production and crop protection: Estimated losses in major food and cash crops. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, The Netherlands.

40- Olsen, K.M. and J.C. Daly. 2000. Plant-toxin interactions in transgenic Bt cotton and their effect on mortality of Helicoverpa armigera (Lepidoptera : Noctuidae). J. Econ. Entomol., 93(4):1293-1299.

41- Pilcher, C. D., Rice, M. E., Obrycki, J. J., and Lewis, L. C. 1997. Field and laboratory evaluations of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn on secondary Lepidopteran pests (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 90:669-678.

42- Puntambekar, et al. 1995. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* and protoplast fusant against Spodoptera litura (F.). Letters in Appl. Microbiol., 21:348-350.

43- Reimers, C. I., Clark, T. L., Kamble, S. T., and Foster, J. E. 1998. Relationship of European corn borer and stalk rots in Bt and near isoline non-Bt maize hybrids in southeastern Nebraska. (Abstr.) 1998 Entomol. Sci. Am. North Central Branch Abstract D-7.

44- Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the Bacillus thuringiensis pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62(3), 807–813.

45- Russell , G. E. 1972 . Components of resistance to diseases in sugar – beet . In F. G. H. Lupton , G Jenkins and R. Johson (Eds) The Way

Ahead in Plant Breeding , pp . 99 – 107 . The Plant Breeding Institute , Morris Lane , Cambridge .

46- Ryder, M.H. and Jones, D.A. 1990. Biological control of crown gall. PP. 45-63. In: Biological control of soil-borne plant pathogens (ed. D. Hornby). CAB International, Wallingford.

47 - Schnepf, H. E.; Tomczak, K.; Ortega, J. P.; Whiteley, H. R. (1990). Specificity-determining regions of a lepidopteran-specific insecticidal *protein produced by Bacillus thuringiensis.* Journal of Biological Chemistry 265, 20923–20930.

48- Schuler, T.H. (2000). The impact of insect resistant GM crops on populations of natural enemies. Antenna. Bulletin of the Royal Entomological Society 24(2), 59–65.

49- Schuler, T. H.; Poppy, G. M.; Denholm, I. (2000). Recommendations for assessing affects of GM crops on non-target organisms. Proceedings of the Brighton Crop Protection .

50- Sharma, H.C.; K.K. Sharma; N. Seetharame and Rodomiro Ortiz. 2001. Genetic transformation of crop plants: Risks and opportunities for the rural poor. Current Science, vol. 80(12) :1495-1508.

51- Sharma, H.C.; Sharma, K.K.; Seetharma, N. and Ortiz, R. 2001. Genetic trnansformation of crop plants: Risks and opportunities for the rural poor. Current Science, vol. 80(12, 25) :1495-1508 .

52- Smeltzer, D. G. 1958. Relationship between Fusarium ear rot and corn earworm infestation. Agron. J. 50:53-55.

53- Smith, D. R., and White, D. G. 1988. Diseases of corn, pp. 701-766 in Corn and Corn Improvement, Agronomy Series #18 (3rd ed.) (Sprague, C.F., and Dudley, J.W., eds.) ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI.

54- Sobek, E. A., and Munkvold, G. P. 1999. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larvae as vectors of Fusarium moniliforme, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. J. Econ. Entomol. 92:503-509.

55- Tantimavanich, S.; S, Pantuwatana; A. Bhumiratana and W. Panbangred. 1998. Multiple chitinase enzymes from a single gene of Bacillus licheniformis TP-1. J. of Fermentation and Bioengineering, 85(3):259-265.

56- Tantimavanich, S.; S, Pantuwatana; A. Bhumiratana and W. Panbangred. 1997. Cloning of a chitinase gene into *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* for enhanced insecticidal activity. J. Gen. Appl. Microbiol., 43:341-347.

57- Tatum EL, Lederberg Joshua. 1947 . Gene Recombination in the Bacterium *Escherichia coli.* J Bacteriol. Jun;53(6):673–684.

58- Tinland, B. 1996. The integration of T-DNA into plant genomes. Trends in Plant Science, 1:178-184 .

59- Tinland, B. 1996. The integration of T-DNA into plant genomes. Trends in Plant Science, 1:178-184

60- Tull, D.E. 1988. The release of genetically-engineered micro-organisms. Academic Press.

61-Union of Concerned Scientists . Biobit and Terminator Technology . The Gene exchange , Winter 1998 . pp . 4 – 5 .

62- Van der Plank , J. E. 1984 . (2 nd Ed .) . Disease resistance in plants . Academic proc. N. Y. 194 p .

63- Windham, G. L., Williams, W. P., and Davis, F. M. 1999. Effects of the southwestern corn borer on *Aspergillus flavus* kernel infection and aflatoxin accumulation in maize hybrids. Plant Dis. 83:535-540.

64- Zhong, C.; Ellar, D. J.; Bishop, A.; Johnson, C.; Lin, S.; Hart, E. R. (2000). Characterization of a *Bacillus thuringiensis* delta -endotoxin which is toxic to insects in three orders. Journal of Invertebrate Pathology 76, 131–139.

65- ZINDER ND. 1953 . Infective heredity in bacteria. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. ;18:261–269.

66- Zinder, Norton D.; Lederberg, Joshua. 1952 . G.enetic exchange in S.almonella. J Bacteriol. Nov ; 64(5) : 679–699

67- Van der Plank , J. E. 1984 . (2 nd Ed .) . Disease resistance in plants . Academic proc. N. Y. 194 p.

المواقع المرتبطة بالصور الخاصة بموضوعات الكتاب :

- (http://www.scq.ubc.ca/?p=518).
- (http://www.artsci.wustl.edu/~anthro/blurb/Backgrounder.html).
- (http://www.agbioforum.org/v7n12/v7n12a04-zehr.htm)
- (http://www.scq.ubc.ca/?p=518).
- (http://www.biosicherheit.de/imagescontent/lexikon/leximg_id39_145x93.jpg).
- (http://www.apsnet.org/education/feature/maize/top.htm).
- (http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/3/8/626_meiyalaghans.htm).
- (http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/CC/s5.html).
- (http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/penicill.htm).
- (http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/Malloch/Moulds/Penicillium.html)
- http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/penmicro.htm
- http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/penicill.htm.
- http://www.egypt-bic.com/Book2.htm
- http://www.angelfire.com/ut/ASSIUTAG/TC.htm
- http://www.kenanaonline.com/page/7447

رقم الإيداع بدار الكتب المصرية

٢٠٠٧/١٥١٨٦

هذا الكتاب

لقد تم إعداد هذا الكتاب للربط بين الوراثة وأمراض النبات، خاصة وأن الجهاز الوراثى فى مسببات أمراض النبات والتركيب الوراثى للنبات العائل هما اللذان يحددان مدى قابلية إصابة العائل من عدمه بالمسبب المرضي، هذا علاوة على وجود تخصص فى الإصابة بمعنى أن مسبب مرضي معين يصيب عائل معين أو عدد من أفراد العائل القريبة جداً منه من الناحية الوراثية، ونظراً لما تسببه الآفات الحشرية من خسائر اقتصادية كبيرة فى إنتاجية المحاصيل والفاكهة والخضراوات، لذلك استخدم المزارعون المبيدات الكيماوية لحماية محاصيلهم. لكن الاستخدام المكثف والعشوائي لتلك المبيدات تسبب فى العديد من المشاكل لكل من الإنسان والحيوان والبيئة المحيطة. ولذلك يعد استخدام التكنولوجيا الحيوية وتطبيقاتها المختلفة ثورة علمية وحضارية بدأتها الدول المتقدمة وأحرزت انتصارات علمية كبيرة وإنجازات مشهودة، مما دعى دول أخرى إلى أن تحذو حذو تلك الدول المتقدمة وذلك للاستفادة من التكنولوجيا الحيوية فى تنمية مجتمعاتهم والنهوض بها.

وتعتبر الهندسة الوراثية وتطبيقات التكنولوجيا الحيوية فى مجال مقاومة الأمراض النباتية علامة مميزة على مدى تقدم الشعوب.

والله ولى التوفيق،،،

الناشر



ISBN : 977- 281- 343- 2

93842

ACADEMIC BOOKSHOP
EGYPTIAN JOINT-STOCK CO. CAIRO 2002